

①⑨ RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
PARIS

①⑪ N° de publication : **2 968 171**
(à n'utiliser que pour les
commandes de reproduction)
②① N° d'enregistrement national : **10 04757**

⑤① Int Cl⁸ : **A 23 L 2/04** (2013.01), A 23 L 2/72, 2/84

①② **BREVET D'INVENTION** **B1**

⑤④ PROCÉDE DE PREPARATION DE JUS DE NONI.

②② Date de dépôt : 07.12.10.

③⑦ Priorité :

⑥⑦ Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

⑦① Demandeur(s) : CENTRE DE COOPERATION
INTERNATIONALE EN RECHERCHE
AGRONOMIQUE POUR LE DEVELOPPEMENT
(CIRAD) — FR et UNIVERSIDAD DE COSTA RICA —
CR.

④③ Date de mise à la disposition du public
de la demande : 08.06.12 Bulletin 12/23.

④⑤ Date de la mise à disposition du public du
brevet d'invention : 26.04.13 Bulletin 13/17.

⑦② Inventeur(s) : BRAT PIERRE, CHAN YANINE,
MERTZ CHRISTIAN, REYNES MAX, PEREZ ANA M
et VAILLANT FABRICE.

⑤⑥ Liste des documents cités dans le rapport de
recherche :

Se reporter à la fin du présent fascicule

⑦③ Titulaire(s) : CENTRE DE COOPERATION
INTERNATIONALE EN RECHERCHE
AGRONOMIQUE POUR LE DEVELOPPEMENT
(CIRAD), UNIVERSIDAD DE COSTA RICA.

⑦④ Mandataire(s) : CABINET ORES Société anonyme.

FR 2 968 171 - B1



Procédé de préparation de jus de Noni

La présente invention se rapporte au domaine de la préparation de jus de noni et de son utilisation pour la santé humaine et animale.

Le nono ou pomme-chien (*Morinda citrifolia*) est un arbre tropical de la famille des Rubiaceae ; il donne des fruits (noni) moins d'un an après sa plantation (**Figure 1**) ; ils sont reconnaissables à leur odeur acre et leur goût amer. L'arbuste atteint sa pleine maturité à deux ans, et fournit jusqu'à 8 kg de fruits par mois, tout au long de l'année. Le murissement de ses fruits se caractérise par l'évolution de leur couleur (**Figure 2**) : ils sont verts (cliché 1 de la **Figure 2**), puis jaunes, et deviennent blanchâtres (cliché 2 de la **Figure 2**) lorsqu'ils sont mûrs ; s'ils conservés davantage, ils deviennent marron clair au bout d'une à trois semaines (cliché 3 de la **Figure 2**), marron foncé après 4 à 6 semaines de conservation (cliché 4 de la **Figure 2**) puis marron noir après 7 à 8 semaines (cliché 5 de la **Figure 2**).

Compte tenu de l'intérêt que présente le noni pour la santé, il est préparé et vendu sous forme de jus ; c'est un remède traditionnel utilisé pour le traitement de multiples désordres incluant le diabète, les troubles cardiaques, l'hypertension ; ses vertus thérapeutiques sont attribuées à la présence d'un précurseur d'un alcaloïde, la xéronine, à ses propriétés antioxydantes et à sa teneur en polyphénols variés.

Traditionnellement, le jus est obtenu par écoulement spontané lors de la conservation (sénescence) des fruits murs. Le jus ainsi préparé présente cependant l'inconvénient d'avoir une odeur très désagréable et une durée de conservation limitée à cause de sa fermentation.

Plusieurs documents décrivent l'intérêt d'utiliser des extraits de noni tels que son jus pour des applications thérapeutiques variées : la Demande WO 02/45734 comme anti-douleur et anti-inflammatoire, la Demande WO 2009/006565 pour inhiber la croissance de bactéries anaérobies gram-, protozoaire et autres microbes et la Demande US 2008/0206376 pour traiter l'hypertension. Les extraits utilisables pour ses applications sont par exemple des décoctions ou des infusions de feuilles, ou encore de la pulpe ou du jus de noni. Lorsqu'il s'agit de jus, il est préparé par filtration (décanteur-centrifugeuse, filtre presse ou filtration par osmose inverse) avec un seuil de coupure compris entre 1 et 2000 μm (WO 02/45734 et WO 2009/006565) voire 0,01 à 2000 μm (US 2008/0206376). Les jus ainsi obtenus sont ensuite pasteurisés.

Ces procédés ne permettent toutefois pas de supprimer l'odeur désagréable du jus.

Afin de remédier à cet inconvénient, le brevet américain US 5,288,491 propose de préparer des extraits de noni sous forme de poudre ; mais ce mode de
5 préparation altère les composés actifs du noni.

La Demande FR 2 783 137 décrit la préparation d'une composition à base de noni qui consiste à cueillir le fruit à un stade de mûrissement qui correspond au moment où la couleur du fruit vire du vert au jaune blanchâtre, puis les fruits sont lavés et
10 broyés dans une broyeuse-centrifugeuse, la pulpe est ensuite pressée pour récupérer le jus, le jus obtenu est filtré sur tamis fin puis traité par dépectinisation dans le but d'obtenir un jus clair ; le jus est ensuite pasteurisé. L'inconvénient de cette méthode est que le rendement en jus obtenu en pressant précocement les fruits est faible.

Il demeure donc le besoin de préparer, avec un rendement satisfaisant, un jus de noni présentant des qualités nutritionnelles et thérapeutiques aussi bonnes que celles
15 du jus de noni préparé traditionnellement mais avec des qualités organoleptiques améliorées et ayant une meilleure durée de conservation.

La Demanderesse a ainsi mis au point un nouveau procédé de préparation de jus de noni désodorisé présentant une bonne stabilité microbiologique et dont la composition biochimique en composés polyphénoliques est conservée par rapport au jus de
20 fruit préparé selon la méthode traditionnelle préservant ainsi les vertus thérapeutiques dudit jus.

La présente invention se rapporte donc à un procédé de préparation de jus de noni comprenant les étapes de :

a) broyage de fruits de noni lorsqu'ils sont au stade de maturité blanc
25 translucide pour produire une purée de fruits de noni ;

b) traitement enzymatique de ladite purée de fruits de noni avec une préparation enzymatique présentant au moins une activité pectinase, correspondant à une activité polygalacturonase (EC 3.2.1.15) supérieure à 4 UI.ml⁻¹ et/ou une activité pectine-
lyase (EC 4.2.2.10) supérieure à 3 UI.ml⁻¹, et au moins une activité cellulase correspondant
30 à une activité endo-cellulase (EC 3.2.1.4) supérieure à 20 UI.ml⁻¹ et/ou activité exo cellulases (EC 3.2.1.91) supérieure à 4 UI.ml⁻¹, à une teneur comprise entre 50 à 200 ml ou g/tonne de purée de fruits de noni à une température comprise entre 20 et 55°C pendant au moins 30 minutes ;

c) élimination de la pulpe et des graines présentes dans les fruits de noni par pressage de ladite purée conduisant à un premier jus ;

d) tamisage ou filtration grossière dudit premier jus obtenu à l'issue de l'étape c) conduisant à un second jus ;

5 e) microfiltration ou ultrafiltration tangentielle sur membrane céramique tubulaire de seuil de coupure inférieur ou égal à 0,5 μm dudit second jus obtenu à l'issue de l'étape d).

Les activités enzymatiques sont exprimées en UI, c'est-à-dire en micromoles de groupements réducteurs libérés à partir du substrat ; ledit substrat étant
10 l'acide polygalacturonique pour l'activité polygalacturonase (EC 3.2.1.15) ; la pectine citrique estérifiée 80% pour l'activité pectine-lyase (EC 4.2.2.10) ; la carboxyméthyl-cellulose pour l'activité endo-cellulase (EC 3.2.1.4) et la cellulose cristalline pour l'activité exo-cellulase (EC 3.2.1.91) et les conditions expérimentales standards sont respectivement les suivantes : pH 4, à 30°C ; pH 6 à 40°C ; pH 4,6 à 38°C et pH 4,8 à 50°C.

15 De façon préférée :

- les fruits du noni sont lavés et désinfectés avant l'étape a) de broyage ; la désinfection peut être réalisée par tout moyen connu de l'homme du métier, par exemple, avec une solution aqueuse de chlore ou une solution d'hypochlorite de sodium ;

- l'étape b) de traitement enzymatique est réalisée sous agitation ;

20 - l'étape c) de pressage peut être réalisée par tout moyen, par exemple, à l'aide d'une presse à paquet, d'une presse à vis, d'une presse à bande, etc. ;

- l'étape d) de tamisage ou filtration grossière peut être par exemple réalisée avec un tamis de 1,5 mm. Cette étape permet avantageusement de diminuer la turbidité du jus obtenu après pressage. La turbidité est définie comme la réduction de la
25 transparence d'un liquide due à la présence de matières non dissoutes ; dans le cas présent, elle est inférieure à 2000 NTU à l'issue de l'étape d) (Nephelometric Turbidity Unit, dont la mesure s'effectue sur la lumière diffusée avec un angle de 90° par rapport à l'échantillon à évaluer et à une longueur d'onde de 860 nm).

L'étape de traitement enzymatique conduit à la liquéfaction de la purée
30 de fruits de noni ; elle permet d'utiliser des fruits à un stade maturité précoce au cours duquel le fruit n'a pas encore développé d'odeur trop forte ; elle permet également d'augmenter la fraction de jus récupéré et ainsi le rendement de production de jus.

Cette étape peut être réalisée avec un mélange enzymatique commercial conçu pour hydrolyser les parois des fruits et faciliter le pressage et sélectionné pour ses activités enzymatiques pectinase et cellulase ; de telles préparations peuvent notamment être sélectionnées comme décrit à l'exemple I.13.

- 5 A titre d'exemple, les préparations enzymatiques pourront présenter toute ou partie des activités enzymatiques suivantes dans les gammes d'activité indiquées (exprimées en UI, μ moles de produits/min), étant entendu que lesdites préparations présentent au moins les activités pectinase et cellulases telles que définies précédemment :

Activité enzymatique	Endo-cellulase	Exo-cellulase	Pectine-lyase	Pecti-nesterase	Poly-galacturonase	Xylanase	Mananase	Galac-tanase	β -glucosidase	Exo-arabinase
Gamme d'activité	20-100	5-200	5-300	50-800	5-4000	50-250	20-50	10-100	50-200	50-300

- Ces préparations peuvent être utilisées à une concentration comprise entre 50 et 300 ml/tonne de fruits, de préférence 200 ml/tonne de fruits, et entre 120 et 200 minutes de macération, de préférence 150 minutes, avec une faible agitation.

- L'étape e) de micro- ou d'ultrafiltration permet de retenir totalement les composés insolubles et les formes végétatives des microorganismes et leurs spores ; elle permet également de retenir les acides gras volatils hydrophobes à chaîne longue responsables de l'odeur désagréable du jus de noni.

- L'étape de microfiltration peut être mise en œuvre avec des membranes en céramique (par exemple, en alumine zircone) ou des membranes organiques avec un diamètre de pores compris entre 0,05 et 0,5 μ pour les membranes de microfiltration et un seuil de coupure compris entre 10 et 50 kD pour les membranes d'ultrafiltration ; cette étape est de préférence conduite en appliquant une pression transmembranaire comprise entre 0,5 et 3 bars, de préférence entre 1 et 1,5 bar.

Enfin, le jus ainsi obtenu est préférentiellement conditionné aseptiquement ; il présente alors une durée de vie d'au moins 1 an.

- Un contrôle de la qualité nutritionnelle du jus ainsi obtenu montre que sa composition biochimique en composés non volatils n'est pas altérée et que le jus conserve toutes ses vertus thérapeutiques. En particulier, le procédé selon l'invention n'affecte pas la composition en composés phénoliques présents dans le jus initial ainsi que son pouvoir antioxydant.

- En outre, ce procédé permet avantageusement de réduire la teneur en acides gras volatils responsables de la mauvaise odeur du jus de noni (en particulier de l'odeur de rance) de 50 à 70 % en poids par rapport à leur teneur initiale.

Ainsi, la sénescence ou le vieillissement pratiqué traditionnellement en vue de l'obtention du jus de noni apparaît inutile voire même préjudiciable pour les qualités organoleptiques des jus (développement d'une odeur très forte). L'utilisation de préparations enzymatiques, notamment de mélanges commerciaux, remplace de façon
5 avantageuse l'action très lente des enzymes naturelles du fruit sur la liquéfaction des parois cellulosiques.

La présente invention se rapporte encore au jus de fruit de noni obtenu par le procédé selon l'invention. Plus spécifiquement, la présente invention se rapporte à un jus de noni qui se caractérise par une faible teneur en composés indésirables
10 responsables d'une odeur désagréable ; en particulier, une teneur en acide octanoïque (ou caprylique) inférieure à 200 µg/g, de préférence, inférieure à 180 µg/g de jus de noni, et une teneur en acide hexanoïque inférieure à 200 µg/g, de préférence, inférieure à 190 µg/g de jus de noni. Dans un mode de réalisation particulier de l'invention, ce jus se caractérise en outre par une teneur en acide 2-méthyle propanoïque inférieure à 6 µg/g de jus de noni
15 et/ou une teneur en acide décanoïque inférieure à 1 µg/g de jus de noni.

Figures

La **Figure 1** représente deux clichés de fruits de noni verts récoltés dans la plantation de l'Université EARTH, Costa Rica.

La **Figure 2** regroupe plusieurs clichés qui illustrent l'évolution de la
20 couleur de l'épicarpe du noni pendant sa maturation et sa sénescence.

La **Figure 3** représente le schéma méthodologique de détermination des polyphénols totaux et de la vitamine C (A, obtention des différents extraits; B, protocole de Folin-Ciocalteu optimisé).

La **Figure 4** représente le protocole suivi pour la détermination de la
25 filtrabilité des échantillons.

La **Figure 5** représente le schéma du flux de procédé suivi pour l'obtention de jus de noni traité enzymatiquement ; il s'agit du jus utilisé pour la microfiltration tangentielle.

La **Figure 6** est un schéma du pilote de microfiltration tangentielle ;
30 légende : 1. Pompe d'alimentation, 2. Pompe de circulation, 3. Module de microfiltration, 4. Echangeur thermique, 5. Manomètre, 6. Débitmètre.

La **Figure 7** est un histogramme montrant l'évolution de la concentration de scopolétine et de rutine dans les fruits de noni pendant le mûrissement et la sénescence.

Les valeurs présentées sont les moyennes et les écarts types de trois échantillons analysés d'une façon indépendante.^{a,b,c} Les valeurs dans les colonnes suivies par la même lettre ne sont pas significativement différentes à $P < 0.05$ (Test de Duncan).

La **Figure 8** représente le chromatogramme CG-MS des composés aromatiques trouvés dans la pulpe de noni mûr. Les composés identifiés avec des numéros correspondent sont ceux trouvés en plus grande concentration (légende : 1 : acide hexanoïque méthyle ester, 2 : acide hexanoïque éthyle ester, 3 : acide octanoïque méthyle ester, 4 : acide octanoïque éthyle ester, 5 : acide hexanoïque, 6 : acide octanoïque).

La **Figure 9** regroupe trois graphiques représentant l'évolution de quelques composés volatils identifiés dans la pulpe de noni pendant la sénescence (A : Acide hexanoïque et acide octanoïque, B : Esters des acides hexanoïque et octanoïque, C : alcools et acide acétique).

La **Figure 10** illustre le volume de jus de noni obtenu au cours de 25 minutes de filtration après traitement enzymatique ($200 \mu\text{l}$ de mélange enzymatique. kg^{-1} pulpe de noni pendant 60 minutes à température ambiante) ; les valeurs numériques représentent l'augmentation de volume par rapport au volume du témoin non traité.

La **Figure 11** est la représentation graphique de la surface de réponse du rendement du mélange enzymatique Klerzyme-150[®] en relation à la concentration et temps d'activité dans la pulpe de noni mûr.

La **Figure 12** est un graphe représentant l'effet de trois valeurs de pression transmembranaire sur le flux pendant la microfiltration de jus de noni.

Exemples

I. MATERIELS ET METHODES

I.1. Matériel végétal

Les fruits de noni utilisés proviennent de la plantation expérimentale de l'Université EARTH (*Escuela de Agricultura de la Región Tropical Húmeda*), Limón, Costa Rica. Cette Université est localisée en zone tropicale humide entre 100 et 150 m d'altitude, la température varie entre 25 et 30°C et l'humidité entre 80 et 90%. Les fruits ont été récoltés au stade de maturité « vert » (épiderme vert clair jaune pâle, texture très dure, odeur légère) (**Figure 1**).

I.2. Préparation des échantillons pour l'étude de vieillissement

Les fruits verts (noni vert) ont été lavés et désinfectés avec une solution de chlore à 200 mg.l^{-1} et stockés dans des containers fermés à température ambiante. Trois

jours après, les fruits sont parvenus à maturité et un deuxième échantillon de noni mûr est alors prélevé. A partir de ce jour-là, un échantillon est prélevé chaque semaine et ce jusqu'à la huitième semaine (**Figure 2**, Tableau I).

Tableau I. Caractéristiques des échantillons utilisés

Nom échantillon	Type échantillon	Caractéristiques
Noni vert	Noni vert (fruit récolté)	Vert clair - jaune pâle, très dur, odeur légère
Noni mûr	Noni mûr (3 jours après la récolte)	Translucide – grisâtre, mou, odeur forte
Noni 1	Noni à une semaine de stockage	Marron clair, mou, odeur forte
Noni 2	Noni à deux semaines de stockage	Marron clair, très mou, odeur plus forte
Noni 3	Noni à trois semaines de stockage	Marron, très mou, odeur très forte
Noni 4	Noni à quatre semaines de stockage	Marron foncé, très mou, odeur très forte
Noni 5	Noni à cinq semaines de stockage	Marron foncé, très mou, odeur très forte
Noni 6	Noni à six semaines de stockage	Marron foncé, très mou, odeur très forte
Noni 7	Noni à sept semaines de stockage	Marron-noir, très mou, odeur très forte
Noni 8	Noni à huit semaines de stockage	Marron-noir, très mou, odeur très forte

5

I.2.1. Préparation de la purée de noni

La purée a été obtenue à partir de la pulpe des fruits séparée manuellement des graines et broyée avec un Warring Blendor pendant 3 minutes. Pour les analyses où l'échantillon frais était requis, la pulpe a été conservé à 5°C. Pour les autres mesures, la pulpe a été congelée à l'azote liquide et lyophilisée. Les échantillons ont été conservés à -20°C.

10

I.3. Analyses chimiques

I.3.1 pH

Le pH a été mesuré avec une électrode de verre et un pH-mètre (Model 530) par la méthode officielle (AOAC, 1990) sur une fraction aliquote de jus obtenue par filtration de la purée sur papier N° 4.

15

I.3.2 Extrait sec soluble (°Brix)

La concentration en extrait sec soluble a été mesurée par réfractométrie. La déviation de l'angle lumineux est rapportée à la teneur en éléments solubles présents

dans le milieu. Les sucres sont les constituants majoritaires de l'extrait sec de la plupart des fruits et l'indice réfractométrique est généralement directement converti en la teneur en sucre du milieu (1 degré Brix = 1 g de sucres pour 100 ml).

L'extrait sec soluble a été mesuré à l'aide d'un réfractomètre Abbe (Milton Roy Company LR45227) sur une fraction aliquote de jus obtenue par filtration de la purée. La lecture a été effectuée à température ambiante.

I.3.3 Détermination de la matière sèche

La matière sèche des échantillons a été déterminée par gravimétrie. Les échantillons frais ont été pesés avant et après séchage dans une étuve à 50°C pendant 3 h puis une nuit à 60°C dans une étuve sous vide. Les résultats sont exprimés en g.100 g⁻¹ pulpe.

I.3.4 Dosage des protéines

Les teneurs en protéines ont été déterminées par dosage de l'azote par la technique de micro-Kjeldhal (Bietz, 1974). L'azote organique est oxydé en sulfate d'ammonium par l'acide sulfurique concentré à chaud en présence d'un catalyseur approprié. L'azote ammoniacal formé par addition de phénol en milieu alcalin est dosé par colorimétrie suite à l'addition d'hypochlorite de sodium. La coloration bleue due à la formation d'indophénol est mesurée à 630 nm. La teneur en protéines est obtenue en multipliant la teneur en azote par 6,25.

I.4. Analyses microbiologiques

Les analyses microbiologiques ont été réalisées sur de la pulpe des fruits le jour même de sa préparation. Toutes les analyses ont été réalisées en triple.

I.4.1 Flore totale (bactéries mésophiliques)

Le contenu total en bactéries mésophiliques dans le noni a été évalué par la méthode AMCITA-M001 Galerie API « *Aerobic Plate Count* » décrite par l'AOAC (1998).

I.4.2 Moisissures et levures

Le contenu en moisissures et en levures dans le noni a été évalué par la méthode officielle AMCITA-M007 décrite par l'AOAC (1998).

I.4.3 Bactéries acides lactiques

Le contenu total en bactéries lactiques dans le noni a été évalué par la méthode AMCITA-M022 décrite par Downes et Ito (2001).

I.5. Détermination de l'activité antioxydante

I.5.1. Méthode O.R.A.C. (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*)

Le pouvoir antioxydant des échantillons a été évalué à partir de la mesure de la capacité d'absorption du radical oxygène (ORAC), en présence de fluorescéine utilisée comme indicateur d'attaque du radical peroxyde selon la méthode décrite par Ou *et al.* (2001) et modifiée par Vaillant *et al.* (2005).

0,5 g d'échantillon lyophilisé ont été mélangés à 20 ml d'une solution d'acétone/eau (50:50, v/v) et maintenus sous agitation à température ambiante pendant 1 heure. Après filtration sur papier filtre, l'extrait a été dilué 100 fois avec du tampon phosphate 75 mM, pH 7,4. 750 µl de cet extrait ont été ensuite incubés pendant 15 min à 37°C avec 1,5 ml de fluorescéine $8,16 \times 10^{-5}$ M (Sigma, USA) directement dans la cuve du spectrophotomètre (spectrophotomètre Shimadzu RF-1501 équipé d'une lampe de xénon). Puis 750 µl d'une solution à 153 mM d'AAPH (2,2'-azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride, Wako International, USA) ont été ajoutés. Une mesure de la fluorescence a été réalisée 30 secondes après cet ajout puis, toutes les minutes jusqu'à ce que la valeur de fluorescence soit inférieure ou égale à 10% de la valeur initiale. La longueur d'onde d'excitation a été fixée à 493 nm et la longueur d'onde d'émission à 515 nm. Pendant toute la mesure, la température de la cuve a été maintenue à 37°C. Les résultats sont donnés en équivalents du Trolox® (acide 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylique) par gramme grâce à une gamme étalon dont les concentrations sont comprises entre 10 à 50 µM.

I.5.2. Méthode FTC (*Ferric thiocyanate*)

La capacité antioxydante a été déterminée par la mesure de l'absorbance d'un complexe coloré généré par la réaction entre le peroxyde et le chlorure ferreux qui forment les ions ferriques. Les ions ferriques réagissent avec le thiocyanate d'ammonium et produisent le thiocyanate ferrique qui donne une couleur rouge. La méthode FTC a été adaptée de la méthode d'Osawa et Namiki (1981) et de Mohd *et al.* (2002).

Préparation des extraits : 5 g de purée de noni mûr lyophilisée ont été traités avec 30 ml de méthanol à température ambiante pendant 24 heures. Puis, ce mélange a été filtré (filtre n°4) et rincé deux fois avec 20 ml de méthanol. La fraction méthanolique a été évaporée sous vide jusqu'à l'obtention de l'extrait méthanolique d'une texture pâteuse au fond du ballon. Le filtrat a été traité avec 20 ml d'acétate d'éthyle, filtré (filtre n°4) et rincé deux fois avec 10 ml d'eau distillée. La fraction d'acétate d'éthyle a été

évaporée sous vide jusqu'à l'obtention d'une texture pâteuse au fond du ballon (extrait d'acétate d'éthyle). Ces extraits sont les échantillons à utiliser pour la méthode FTC et TBA.

4 mg d'échantillon (extrait méthanolique et extrait d'acétate d'éthyle) ont été ajoutés à 4 ml d'éthanol 99,5% (p/v) et mélangés avec 4,1 ml d'acide linoléique à 2,51% dans l'éthanol, 8 ml de tampon phosphate (0,05 M, pH 7,0) et 3,9 ml d'eau distillée. Cette solution a été conservée dans un flacon opaque à l'obscurité à 40°C. 0,1 ml de cette solution a été alors ajouté à 9,7 ml d'éthanol à 75% (v/v) et 0,1 ml de thiocyanate d'ammonium 30% (p/v). Puis 3 minutes après avoir ajouté 0,1 ml de chlorure ferreux 20 mM en acide chlorhydrique à 3,5% (v/v) à ce mélange réactionnel, l'absorbance a été mesurée à 500 nm toutes les 24 h jusqu'à ce que l'absorbance du contrôle atteigne sa valeur maximum. Le contrôle négatif a été fait avec de l'éthanol pur et le contrôle positif avec 4 mg de BHT (SIGMA). Les résultats sont exprimés en différence d'absorbance laquelle est inversement proportionnelle à la capacité antioxydante.

1.5.3. Méthode TBA (*Thiobarbituric Acid Test*)

La capacité antioxydante des échantillons a été évaluée à partir de la mesure de l'absorbance d'un complexe rouge généré par la réaction entre l'acide thiobarbiturique et le produit obtenu de la peroxydation lipidique (malonaldéhyde) de l'extrait en conditions acides. La méthode TBA a été accomplie selon la méthode adaptée de Kikuzaki et Nakatani (1993), Ottolenghi (1959) et Mohd *et al.* (2002).

Cette méthode s'applique aux extraits méthanoliques et d'acétate d'éthyle. 1 ml d'échantillon a été ajouté à 2 ml d'acide trichloracétique et 2 ml d'une solution d'acide thioarbiturique 20%. Ce mélange est alors placé dans un bain à 100°C pendant 10 minutes. Après refroidissement, le mélange est centrifugé à 3000 g pendant 20 minutes et l'absorbance du surnageant est mesurée à 532 nm. Les résultats sont exprimés en différence d'absorbance laquelle est inversement proportionnelle à la capacité antioxydante.

1.6. Détermination de la teneur en polyphénols

1.6.1. Détermination de la teneur en polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux a été mesurée par une adaptation de la méthode Folin-Ciocalteu (Georgé *et al.*, 2005) (**Figure 3**). Pour la préparation de l'échantillon, 0,3 g de noni lyophilisé a été ajouté à 10 ml d'une solution d'acétone/eau (70/30, v/v) et le mélange est maintenu sous agitation pendant 10 minutes avec un agitateur

magnétique. La suspension a été ensuite broyée à l'aide d'un ultra-turax pendant 2 minutes puis agitée pendant 5 minutes avant d'être filtrée sur papier filtre N° 1. Ce filtrat est alors appelé extrait brut. Une fraction aliquote de 50 µl d'extrait brut a été ajoutée à 450 µl de méthanol contenu dans un tube à essai flacon. 2,5 ml de réactif de Folin (dilué 10 fois avec de l'eau distillée) ont été ajoutés et l'ensemble a été laissé à incuber 2 min à température ambiante. Ensuite, 2 ml d'une solution de carbonate de sodium (75 g.l^{-1}) ont été ajoutés et l'ensemble a été placé 15 min dans un bain marie à 50°C . L'absorbance a été mesurée à 760 nm après refroidissement complet dans un bain d'eau glacé. Les résultats sont donnés en équivalents d'acide gallique (EAG) par 100 grammes grâce à une gamme étalon dont les concentrations d'acide gallique sont comprises entre 0 et 100 mg.l^{-1} (équation de la droite d'étalonnage = 0.021 , $R^2 = 0,98$).

Pour éliminer les interférences liées à la présence d'acide ascorbique et certains sucres dans l'extrait brut, 500 µl d'extrait brut sont mélangés avec 3500 µl d'eau et 500 µl de cette solution ont été déposés sur une cartouche OASIS[®] et rincés deux fois avec 2 ml d'eau distillée. La cartouche retient les composés phénoliques alors que les autres composés réducteurs sont élués par le lavage à l'eau. 500 µl de cette solution aqueuse sont alors traités comme l'extrait brut avec le réactif de Folin. Par conséquent, pour trouver la concentration réelle en polyphénols, il faut soustraire l'interférence au contenu total de polyphénols.

I.6.2. Dosage de l'acide ascorbique

Le dosage de l'acide ascorbique et de l'acide déhydroascorbique a été réalisé par CLHP d'après un protocole adapté de celui décrit par Kacem *et al.* (1986). L'analyse a été réalisée sur de la purée fraîche le jour même de sa préparation. Les échantillons ont été mis à l'abri de la lumière.

L'extraction des acides ascorbique et déhydroascorbique a été réalisée avec une solution d'acide métaphosphorique et d'EDTA pour éviter l'oxydation liée à l'air et à la lumière. 5 g de purée de noni ont été mélangés avec 40 ml d'une solution de dilution préparée par mélange en part égale d'une solution à 3% d'acide métaphosphorique et 8% d'acide acétique préparée dans l'eau et d'une solution renfermant $3,6 \text{ g.l}^{-1}$ d'EDTA dans l'eau. Après 30 minutes d'agitation suivies d'une heure de repos, le mélange a été centrifugé à 2500 g pendant 5 min. Le surnageant et les lavages du culot réalisés avec la solution de dilution ont été transférés dans une fiole jaugée dont le volume a été ajusté à 100 ml. Cette solution a été microfiltrée sur une membrane de $0,45 \text{ µm}$ et 10 µl ont été

injectés en CLHP (colonne C18 Alltech Econosphera, granulométrie 5 μm , 4,6 x250 mm, débit d'élution 0,7 $\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$ avec KH_2PO_4 0,1 $\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ (13,60 $\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$) ajusté à pH 2,50 avec de l'acide phosphorique, température 40°C). L'acide ascorbique est détecté en sortie de colonne par spectrophotométrie UV (254 nm) et l'acide déhydroascorbique est détecté par fluorescence (430 nm de longueur d'onde d'émission, 350 nm de longueur d'onde d'excitation).

Les résultats ont été exprimés en $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ d'acide ascorbique et en $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ d'acide déhydroascorbique grâce à l'utilisation de gammes d'étalonnage de 10 à 200 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ d'acide.

La **Figure 3** représente le schéma méthodologique de détermination des polyphénols totaux et de la vitamine C (A, obtention des différents extraits; B, protocole de Folin-Ciocalteu optimisé).

I.7. Identification de composants phénoliques dans le noni par chromatographie sur plaque ou chromatographie sur couche mince

En chromatographie sur couche mince, la phase stationnaire est déposée sous la forme d'un film très adhérent sur une surface plane solide rigide comme le verre ou flexible comme l'aluminium ou le plastique. Les phases stationnaires les plus utilisées sont le gel de silice et la poudre de cellulose. Selon sa nature, cette phase agit comme une phase d'adsorption ou comme un support de liquide, ce qui permet la mise en œuvre de phénomènes de séparation variables. Les échantillons sont déposés en faible quantité sur la plaque puis celle-ci est déposée dans une cuve en présence de la phase mobile. Cette phase va alors migrer au travers de la phase stationnaire essentiellement par capillarité entraînant plus ou moins rapidement les différents composés du mélange. La vitesse de migration dépend en effet de l'affinité du composant pour la phase stationnaire d'une part, et d'autre part, de sa solubilité dans la phase mobile.

100 mg d'échantillon lyophilisé ont été mélangés avec 2 ml d'éthanol 80% et homogénéisés dans un bain à ultra-sons pendant 15 minutes. Ce mélange a été ensuite filtré sur papier filtre ou sur du coton puis stocké à 4°C avant d'être déposé (2 à 5 μl) sur une plaque de cellulose (Merck 1.05552.0001). La plaque a été ensuite placée dans la cuve à solvant en présence du solvant de travail (acide acétique 2%, solvant D : ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{COOH}/\text{H}_2\text{O}$, 60:40:4, v/v/v), acide acétique 15% ou n-butanol/acide acétique/eau (40:10:22, v/v/v)). La migration a été arrêtée à 1,5 cm du bord supérieur, puis la plaque a été séchée et éventuellement traitée avec le révélateur approprié (NEU: 2-

aminoéthyle diphényborinate et PEG polyéthylenglycol) avant d'être observée à la lumière ou sous UV. L'identification des composés phénoliques a été rendue possible grâce à l'utilisation de différents étalons (alizarine, aucubine, isoquercitrine, 1-kaempferol, kaempferol-3-glucoside, rutine, morine et quercétine).

5 I.8. Détermination des composants phénoliques dans le noni par HPLC

500 mg de poudre de noni lyophilisée et 25 ml de méthanol ont été homogénéisés dans un bain à ultra-sons pendant 1 heure et puis sous agitation pendant 30 minutes. La suspension a été ensuite filtrée et séchée au rotavapor à 40°C. Les composants phénoliques ont alors été récupérés avec 2 ml d'un mélange méthanol:eau (50:50, v/v) et microfiltrés sur une membrane de 0,45µm. L'extrait récupéré a été stocké à -20°C jusqu'à son analyse par HPLC (Dubber et Kanfer, 2004).

L'appareillage utilisé est une chaîne Waters (Millipore Corp. Milford, USA), comprenant un injecteur à boucle, deux pompes haute pression modèle 510, un contrôleur automatique de gradient, un four à colonnes, un détecteur à barrette de diodes Waters modèle 990 avec un logiciel de traitement de données. La séparation a été réalisée à 40°C sur une colonne 100 RP-18 (phase inverse) (Merk, Lichspher), granulométrie 5 µm, dimensions 4x250 mm. 20 µl d'extrait ont été injectés et l'élution a été réalisée par un gradient des solvants A (100 % acétonitrile) et B solution aqueuse à 3% d'acide formique dont les caractéristiques sont rapportées dans le Tableau II.

Tableau II. Gradient d'élution de la phase mobile.

Temps (minutes)	Pourcentage du solvant A	Pourcentage du solvant B	Débit (ml.min ⁻¹)
0	15	85	0,7
15	25	75	0,7
33	25	75	0,7

La détection a été réalisée à 350 nm et les concentrations en scopolétine, rutine et quercétine ont été déterminées grâce à des gammes étalon réalisées pour chaque constituant entre 20 et 50 µg/ml dans un mélange méthanol:eau (50:50, v/v).

25 I.9. Détermination des composants aromatiques

Extraction des composants aromatiques

1 g de jus ou purée de noni et 45 µg de n-octanol ont été homogénéisés à l'aide d'un Potter Elvehjem en présence de 50 ml du mélange azéotropique (pentane/éther,

1:1 v/v) pendant 5 minutes à température ambiante. La phase azéotrope est ensuite récupérée et déshydratée sur sulfate de sodium anhydre et concentrée à 1 ml sur colonne Vigreux à 37°C. Les extraits ont été stockés à -20°C jusqu'à analyse.

Dosage des composants aromatiques

5 L'identification et la quantification des composants aromatiques ont été réalisées à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse Hewlett-Packard 6890 couplé à un spectromètre de masse Hewlett-Packard 5973 fonctionnant en mode impact électronique. La colonne utilisée est une colonne capillaire DB-Wax (60 m x 0,32 mm ; épaisseur de phase 0,25 µm ; J/W Scientific, Folsom, CA, USA). Les conditions
10 d'injections sont les suivantes : Température de la source : 230°C, Température du quadripole : 150°C, Energie : 70 eV Température du four : 40°C pendant 3 minutes, puis 3°C.min⁻¹ jusqu'à 250°C, enfin 20 min à 250°C, Gaz vecteur : He à 1,1 ml.min⁻¹.

2 µl d'extrait ont été injectés et les composants volatiles ont été identifiés sur leurs spectres de masse (homologie avec le spectre de référence > 90% des
15 bibliothèques de Wiley 275 et MME NIST) et sur leurs indices de rétention linéaires (IRL) calculés à partir d'un mélange de *n*-alcanes (C₅-C₃₀). Le log P (coefficient de partition de l'octanol-eau) a été obtenu à partir de la littérature. Les résultats ont été exprimés en µg.g⁻¹ pulpe et développés par l'analyse de composés principales (ACP) en utilisant le logiciel XLSTAT Version 2007.1.

I.10. Préparation des matériels insolubles dans l'alcool (MIA)

La méthode est basée sur l'insolubilité des composants polysaccharides pariétaux dans l'éthanol à 80% (v/v) et permet de les séparer des constituants cytoplasmiques et vacuolaires (Selvendran, 1975).

Les échantillons (100 g de purée de noni) ont été mélangés avec 400 ml
25 d'éthanol 95% bouillant pour inhiber les activités enzymatiques endogènes (pectine-méthylestérases, polygalacturonases) et d'éliminer les constituants de faibles masses moléculaires comme les sucres solubles (glucose, fructose, saccharose), les acides organiques (acide tartrique, acide citrique) et les pigments. Le mélange a été maintenu 30 minutes à ébullition afin d'inhiber les activités enzymatiques endogènes puis il a été
30 filtré sur fritté n°3. Le précipité récupéré a été ensuite lavé par deux volumes d'éthanol à 80%, puis deux volumes d'éthanol absolu, deux volumes d'acétone et enfin un volume d'éther. Le précipité final a été séché à 60°C pendant 3 heures puis entièrement déshydraté

à l'étuve sous vide à 55°C pendant une nuit. Le produit a alors été pulvérisé et stocké à -20°C.

I.11. Préparation de la matière insoluble dans l'alcool et dans l'eau (MIA-E)

5 Le MIA a été lavée avec de l'eau à 5°C jusqu'à ce qu'il n'y ait plus de sucres (test d'anthrone négatif). Le précipité insoluble dans l'eau a été séché par lyophilisation (MIA-E). L'eau de lavage qui contient les pectines solubles a également été séchée par lyophilisation. Les lyophilisats obtenus ont ensuite été pulvérisés et stockés à -20°C.

I.12. Détermination des sucres (test d'anthrone)

Par chauffage en milieu acide, les polysides sont hydrolysés en sucres neutres qui forment des dérivés furfuriques avec l'anthrone (9,10-hydro-9-oxoanthracène). Ces derniers se condensent avec l'anthranol pour former un composé bleu-vert dont le maximum d'absorption se situe à 625 nm (Dubois *et al.*, 1956).

15 10 mg des échantillons (MIA, MIA-E, MIA-E traité enzymatiquement et cocktails enzymatiques) ont été préparés par l'addition de 10 ml d'une solution tampon à pH 4,6. Pour les échantillons traités enzymatiquement 100, 150 et 200 $\mu\text{l.l}^{-1}$ d'un cocktail enzymatique ont été additionnés. Les produits obtenus ont ensuite été incubés sous agitation à 30°C pendant 60 minutes. Puis les enzymes ont été inactivées par immersion dans un bain-marie à 80°C pendant 2 minutes. Les produits sont filtrés et stockés à -20°C jusqu'à leur analyse qui a été réalisée selon le protocole suivant.

25 100 μl de la solution à tester et 1,15 ml d'eau distillée ont été placés dans un bain d'eau glacée. Puis 2,5 ml de la solution d'anthrone (0,1 g d'anthrone dans 50 ml d'acide sulfurique) ont été ajoutés. Le mélange obtenu a ensuite été placé dans un bain marie porté à ébullition pendant 10 minutes exactement afin de permettre le développement de la couleur. La réaction a été arrêtée en plaçant le mélange dans un bain d'eau glacée pendant 5 minutes. Puis la mesure de l'absorbance à 625 nm a été réalisée. Les résultats sont exprimés en pourcentage grâce à l'utilisation d'une solution étalon de 10 et 50 $\mu\text{g.ml}^{-1}$ de glucose.

I.13. Sélection du mélange enzymatique pour la liquéfaction du jus de noni

I.13.1 Test de filtrabilité

Le test de filtrabilité permet d'identifier de manière rapide l'activité du mélange enzymatique sur la purée de noni. 7 mélanges enzymatiques commerciaux (Tableau III) ont été testés.

Tableau III. Mélanges enzymatiques testés pour la liquéfaction de la pulpe de noni

Mélanges enzymatique	Activités enzymatiques dominantes
Rapidase®-citrus UF	Pectinase et hémicellulase
Rapidase®-pineapple	Hémicellulase
Rapidase®-UF	Pectinase
Rapidase®-vegetable juice	Pectine cellulase
Clarex®-citrus 12XL	Pectinase et cellulase
Rapidase®-TF	Pectinase et cellulase
Kerzyme®-150	Pectinase et cellulase

Compositions détaillées des préparations à activités pectinase et cellulase :

	CX	C1	PL	PE	PG	Xylanase	Mananase	Galactanase	β-glucosidase	Exo-arabinase
Clarex citrus 12XL	53	157	92	256	1056	119	26	45	64	166
Klerzyme 150	65	134	116	52	46	65	21	30	61	58
Rapidase TF	19	12	258	716	3658	222	31	89	159	262

La purée de noni mûr a été obtenue à l'aide d'une raffineuse avec un tamis de 1 mm. 1 kg de purée de noni a été mélangé avec 200 µl.kg⁻¹ du cocktail enzymatique et laissé à température ambiante pendant 60 minutes. Ensuite, la purée a été placée dans un sac en toile filtrante et le volume de filtrat récupéré en 25 minutes a été déterminé. Ce volume est proportionnel à l'activité du cocktail enzymatique testé.

La **Figure 4** représente le protocole suivi pour la détermination de la filtrabilité des échantillons.

I.13.2. Détermination de la concentration et du temps optimal d'action du mélange enzymatique

Pour la détermination de la concentration et du temps optimal d'action des mélanges enzymatiques, deux plans d'expérience central rotatif avec répétition du point central ont été utilisés (Tableaux IV et V).

Une quantité déterminée du mélange enzymatique à étudier a été ajoutée à 1 kg de purée ; le tout est laissé à température ambiante pendant le temps déterminé par le plan d'expérience. Ensuite, la pulpe a été filtrée grâce à l'aide d'un petit sac de tissu pendant 25 minutes. Le rendement d'extraction a été déterminé à partir de la mesure du volume récupéré. Les résultats ont été exprimés par la méthode de la surface de réponse (MSR) qui est la plus couramment utilisée à la suite de tels plans d'expériences (Gacula, 1984). Le logiciel de traitement statistique JMP version 4.0.4 a été utilisé pour analyser les résultats.

Tableau IV. Premier plan d'expérience pour la détermination de la concentration et du temps optimal d'action des mélanges enzymatiques sélectionnés.

Essai	Test (codifié)	
	Facteur 1	Facteur 2
	Temps (min)	Concentration (ppm)
1	1	1
2	-1	-1
3	0	0
4	1	-1
5	0	0
6	0	0
7	-1,4142	0
8	-1	1
9	0	1,4142
10	1,4142	0
11	0	0
12	0	0
13	0	-1,4142

-1,4142 = 18 minutes et 29,3 ppm

-1 = 30 minutes et 50 ppm

0 = 60 minutes et 100 ppm

1 = 90 minutes et 150 ppm

1,4142 = 102,4 minutes et 170,7 ppm

Tableaux V. Deuxième plan d'expérience pour la détermination de la concentration et du temps optimal d'action des mélanges enzymatiques sélectionnés

Essai	Test (codifié)	
	Facteur 1	Facteur 2
	Temps (min)	Concentration (ppm)
1	-1,4142	0
2	1	1
3	0	1,4142
4	1,4142	0
5	1	-1
6	0	-1,4142
7	0	0
8	-1	1
9	-1	-1

5 -1,4142 = 23 minutes et 8,6 ppm

-1 = 50 minutes et 50 ppm

0 = 115 minutes et 150 ppm

1 = 180 minutes et 250 ppm

1,4142 = 207 minutes et 291 ppm

10 **I.14. Microfiltration tangentielle du jus de noni**

I.14.1. Préparation du jus de noni

Le jus de noni frais a été produit à partir de fruits de noni mûrs récupérés trois jours après leur récolte. Les fruits ont été lavés et désinfectés avec une solution de chlore à 200 mg.l⁻¹ puis déulpés à l'aide d'une raffineuse avec un tamis de 2,5 mm. La purée a été traitée avec 200 µl.l⁻¹ du produit commercial Klerzyme®-DSM pendant 150 minutes à température ambiante. La purée traitée a ensuite été filtrée sur tissu et le jus obtenu a été stocké à -20 °C (**Figure 5**).

I.14.2. Protocole de microfiltration tangentielle

Les essais de microfiltration ont été réalisés avec un équipement pilote de microfiltration tangentielle installé au CITA-UCR au Costa Rica (**Figure 6**).

Le pilote comprend une cuve d'alimentation de 200 litres de capacité reliée à la pompe d'alimentation. Il est équipé d'une membrane céramique de microfiltration (Tube multicanaux membraloX P19 40 commercialisé par la société Pall Exekia). Cette membrane en α -alumine présente un diamètre moyen de pore de $0,2 \mu\text{m}$, une surface totale filtrante de $0,22 \text{ m}^2$. Les essais ont été réalisés à une vitesse tangentielle (U) de 7 m.s^{-1} , une température de 35°C et un volume de travail de 50 l de jus de noni prétraité enzymatiquement. Le volume mort de l'installation est de 3,9 l.

Trois pressions transmembranaires (P_{tm}) de travail ont été choisies pour déterminer l'effet de ce paramètre sur les caractéristiques du rétentat et du perméat obtenus (Tableau VI).

Tableau VI. Pressions transmembranaires testées dans la microfiltration tangentielle du jus de noni.

	Pression d'entrée (bar)	Pression de sortie (bar)	P_{tm} (bar)	(tr/min)
P _{tm} faible	1,8	0	0,9	144
P _{tm} moyenne	2,2	0,45	1,3	444
P _{tm} élevée	3,0	1,25	2,1	804

La cuve d'alimentation a été remplie avec 50 l de jus de noni, puis l'installation a été alimentée en continu. La filtration a été réalisée avec extraction continue du perméat et s'est poursuivie jusqu'à ce que le volume de rétentat soit égal au volume mort de l'installation.

Pendant les essais, le flux (J_p) et le facteur de réduction volumétrique (FRV) du procédé ont été déterminés. Les formules mathématiques permettant le calcul de ces deux paramètres sont données par les équations 1 et 2 :

$$J_p = \text{flux de perméat / surface totale filtrante (l/h.m}^2\text{)}$$

Equation 1

$$\text{FRV} = \frac{V_a}{V_r} = \frac{V_r + V_p}{V_r} = \frac{1 + V_p}{V_r}$$

Equation 2

Où V_a est le volume d'alimentation, V_r le volume du rétentat et V_p le volume du perméat.

I.14.3. Détermination de la turbidité

La turbidité de chaque échantillon (jus de noni traité enzymatiquement, perméat et rétentat) a été déterminée en utilisant un turbidimètre Hach 2100AN (Hach Co., Loveland, CO). Les résultats sont reportés en unités NTU.

5 II. Caractérisation de la composition biochimique du noni au cours de son mûrissement et de sa sénescence

II.1. Potentiel antioxydant

Le **Tableau VII** ci-dessous montre l'évaluation de la concentration en phénols totaux et en vitamine C et la détermination de l'activité antioxydante (ORAC)
10 dans les fruits de noni pendant le mûrissement et la sénescence.

Echantillons		Phénols ^A (mg GAE.100 g ⁻¹ pulpe)	Vitamine C ^B (mg.100 g ⁻¹ pulpe)	ORAC ^C (μmol Trolox.g ⁻¹)
Noni vert				
(Vert clair - jaune pâle)		41,4 (6,9) ^{a,b}	391 (22) ^a	7,4 (0,4) ^{a,b}
Noni mûr				
(Translucide - grisâtre)		51,1 (1,8) ^{a,b}	316 (64) ^{a,b}	8,0 (0,8) ^a
S é n e s c e n c e	Semaine 1	43,9 (17,5) ^{a,b}	293 (79) ^b	7,8 (1,4) ^{a,b}
	Semaine 2	27,5 (10,4) ^a	278 (44) ^{b,d}	6,8 (0,9) ^{a,b}
	Semaine 3	29,4 (19,3) ^a	223 (37) ^{b,c,d}	7,2 (2,1) ^{a,b}
	Semaine 4	45,3 (12,4) ^{a,b}	318 (51) ^{a,b}	8,4 (0,8) ^{a,b}
	Semaine 5	50,8 (12,4) ^{a,b}	294 (41) ^b	7,1 (0,5) ^{a,b}
	Semaine 6	60,0 (12,5) ^b	148 (46) ^c	9,1 (1,0) ^b
	Semaine 7	29,9 (10,6) ^a	284 (18) ^{b,d}	9,4 (1,4) ^{a,b}
	Semaine 8	29,2 (13,0) ^a	193 (28) ^{d,c}	8,7 (0,9) ^a

^A Exprimés en milligrammes d'équivalent acide gallique (GAE) par 100 g de pulpe sans graines

^B Somme d'acide ascorbique et d'acide déhydroascorbique par gramme de pulpe fraîche sans graines

15 ^C ORAC est la capacité d'absorbance du radical oxygène et elle est exprimé en μmol de Trolox ® par gramme de pulpe fraîche sans graines

^{a,b,c} Les valeurs dans les colonnes suivies par la même lettre ne sont pas significativement différentes à P < 0.05 (Test de Duncan)

20 En utilisant la méthode ORAC, on montre que la capacité antioxydante des échantillons a varié entre 6,8 et 9,4 μmol Trolox®.g⁻¹ (Tableau VII) pendant la période

d'étude. Les variations obtenues ne montrent aucune tendance particulière. Les valeurs obtenues sur les extraits testés sont similaires à celles trouvées dans des fruits comme le pamplemousse, la banane, la pomme, la prune, l'orange, le raisin et le fruit de kiwi (Wang, 1996).

5 Les teneurs en polyphénols totaux et en vitamine C et les résultats de détermination du pouvoir antioxydant par les différentes méthodes testées ne montrent pas de tendances spécifiques pendant le mûrissement et la sénescence. Ce comportement montre que le traitement traditionnel n'améliore pas mais ne dégrade pas non plus les caractéristiques antioxydantes du fruit.

10 II.2. Composés phénoliques

Le suivi de l'évolution de la teneur en composés phénoliques est d'autant plus important que les effets biologiques constatés seraient dus principalement aux composés phénoliques. On constate qu'après la période de maturité, il n'y pas de différences significatives quant aux teneurs des différents composés.

15 La **Figure 7** représente l'évolution de la concentration de scopolétine et de rutine dans les fruits de noni pendant le mûrissement et la sénescence. Les valeurs présentées sont les moyennes et les écarts types de trois échantillons analysés d'une façon indépendante.^{a,b,c} Les valeurs dans les colonnes suivies par la même lettre ne sont pas significativement différentes à $P < 0.05$ (Test de Duncan).

20 Ces essais confirment que le choix d'utiliser des fruits au stade blanc translucide permet d'utiliser des fruits présentant une activité antioxydante et ayant une teneur en vitamine C et en composés phénoliques satisfaisantes.

II.3. Composés volatils aromatiques

25 L'identification et la détermination des concentrations des composés identifiés dans le fruit de noni mûr et pendant la sénescence sont présentées dans le Tableau VIII et sur la **Figure 8** qui représente un chromatogramme CG-MS des composés aromatiques trouvés dans la pulpe de noni mûr. Les composés identifiés avec des numéros correspondent sont ceux trouvés en majeure concentration (1 : acide hexanoïque méthyle ester, 2 : acide hexanoïque éthyle ester, 3 : acide octanoïque méthyle ester, 4 : acide octanoïque éthyle ester, 5 : acide hexanoïque, 6 : acide octanoïque).

30

Tableau VIII. Composés volatils ($\mu\text{g.g}^{-1}$ pulpe) identifiés dans le fruit de noni mûr et pendant la sénescence

Composés volatils	Descripteur de l'odeur	IR	IR*	Log P	NONI								
					mûr	Semaine 1	Semaine 2	Semaine 3	Semaine 4	Semaine 5	Semaine 6	Semaine 7	Semaine 8
Esters													
2-méthyle propanoate	sucré	955	932		0,87(0,4)	1,81(0,3)	2,66(0,4)	1,33(0,07)	1,17(0,1)	1,93(0,4)	1,57(0,2)	1,59(0,2)	1,17(0,2)
méthyle butanoate	sucré, fruit gâté, beurre	975	975	1,29	2,00 (1,0)	0,76(0,1)	0,59(0,1)	0,55(0,05)	0,41(0,04)	0,40(0,1)	0,24(0,03)	0,25(0,02)	0,29 (0,1)
2-méthyle méthyle butanoate	Sucré	966	968	1,08	0,97(1,2)	0,12(0,1)	0,16(0,06)	0,09(0,01)	0,06(0,01)	0,12(0,04)	0,07(0,02)	0,082(0,004)	0,10 (0,03)
éthyle butanoate	pomme, fruité, comme à ester, sucré	1000	1001	1,85	9,21 (3,6)	6,76(0,9)	7,49 (2,0)	3,69 (0,1)	3,04 (0,1)	4,00 (0,5)	3,47 (0,2)	3,23 (0,2)	4,10 (0,9)
2-méthyle éthyle butanoate	noix de cajou, sucré, puant, pomme	1021	1037	2,34	0,50(0,4)	0,87(0,1)	1,27(0,2)	0,75(0,2)	0,62(0,04)	0,95(0,2)	0,97(0,2)	1,15(0,1)	0,72 (0,03)
3-méthyle éthyle butanoate	noix de cajou, sucré, fruité, pomme	1038	1073		0,13(0,1)	0,14(0,1)	0,19(0,02)	0,11(0,02)	0,12(0,01)	0,09(0,02)	0,16(0,05)	0,16(0,02)	0,26 (0,1)
méthyle hexanoate	noix de cajou, sucré, eucalyptus, fruité	1166	1185	2,34	18,71(6,7)	2,68(0,1)	1,83(0,3)	1,72(0,04)	1,26(0,01)	1,26(0,3)	1,17(0,3)	1,66(0,1)	2,03 (0,1)
éthyle hexanoate	fruité, sucré, noix de cajou, menthe	1218	1212	2,83	66,67(23,5)	20,67(0,7)	23,84(4,6)	11,51(0,4)	8,45(0,6)	12,94(3,1)	13,21(3,6)	16,15(1,4)	14,89 (1,3)
4-pentenyle butanoate		1235			0,91(0,4)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
méthyle lactate		1291		-0,26	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,29 (0,04)	0,26 (0,1)	0,34(0,1)	0,23(0,1)	n.d.
éthyle lactate	fruité	1317	1298	-0,18	n.d.	n.d.	n.d.	2,65(0,9)	2,41(1,0)	0,52(0,1)	4,23(0,8)	2,48(0,8)	0,32 (0,1)
4-pentenyle		1323			1,84(0,6)	0,14(0,1)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

butanoate													
héxyle iso butyrate	sucré, fruité, pomme, raisin	1329	1333		n.d.	1,41(0,1)	2,11(0,2)	1,01(0,09)	0,71(0,2)	1,68(0,4)	1,27(0,5)	1,41(0,4)	n.d.
méthyle octanoate	orange, vert	1374	1389	3,32	25,21(3,9)	11,63(1,3)	8,53(1,5)	7,40(0,6)	7,19(1,0)	8,40(1,9)	8,58(3,0)	11,42(1,4)	13,35 (2,4)
butyle hexanoate	Fruit gâté	1399	1350	3,81	2,01(1,1)	4,99(1,0)	5,27(0,6)	2,36(0,2)	1,51(0,2)	3,33(0,7)	2,40(1,0)	2,86(0,4)	1,33 (0,2)
éthyle octanoate	Fruit mûr, noix de coco, florale, huile	1422	1423	3,81	100,83(7,4)	63,87(22,6)	70,74(38,7)	74,24(10,7)	59,74(9,6)	85,73(15,8)	104,53(35,8)	113,93(14,5)	89,27 (12,2)
2,methyl butyl hexanoate		1445			n.d.	0,59(0,1)	1,07(0,2)	0,57(0,1)	0,39(0,1)	0,94(0,2)	0,80(0,3)	0,95(0,2)	0,77 (0,2)
éthyle 3-hydroxybutyrate	marshmallow	1494	1484	0,31	n.d.	0,44(0,2)	n.d.	0,67(0,06)	0,59(0,1)	0,73(0,1)	1,15(0,1)	1,07(0,1)	0,48 (0,2)
3-[méthythio]méthyle propanoate		1496			1,87(0,2)	0,34(0,2)	0,07(0,02)	0,07(0,02)	0,04(0,01)	0,06(0,03)	0,038(0,003)	n.d.	n.d.
4-pentenyle hexanoate		1518			14,74(3,6)	3,50(0,4)	0,18(0,2)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
diéthyle malonate	pomme	1555	1542	0,96	1,27(0,7)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
3-méthyle 2-butenyle hexanoate		1571			1,18(0,5)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
méthyle decanoate	vin, huileux	1580	1591	4,41	0,34(0,2)	0,38(0,1)	0,25(0,1)	0,19(0,01)	0,14(0,05)	0,24(0,1)	0,17(0,1)	0,30(0,1)	0,49 (0,1)
héxyle hexanoate	Pomme, peau de pomme, pêche	1598	1599	4,79	1,83(1,4)	21,71(5,4)	25,06(5,3)	11,91(1,8)	5,51(2,4)	11,92(3,3)	10,76(5,8)	2,99(2,0)	21,80 (4,1)
éthyle decanoate	plaisant, raisin	1626	1633	4,79	1,38(0,5)	1,45(0,7)	1,97(0,8)	1,27(0,2)	1,53(0,4)	2,50(0,6)	3,06(1,0)	3,62(0,8)	2,90 (0,4)
3-méthyle butyle octanoate		1646	1671	5,21	n.d.	1,41(0,4)	2,86(1,1)	1,06(0,6)	3,48(5,3)	2,05(2,5)	6,25 (2,2)	11,70(2,0)	5,97 (1,4)

2-hydroxy méthyle benzoate		1737	1713		n.d.	0,14(0,1)	0,34(0,05)	2,65(3,9)	0,68(0,06)	0,46(0,03)	0,29(0,05)	1,30(0,1)	0,11 (0,03)
éthyle phényle acétate	plaisant, fleuri	1755	1751	2,28	0,58(0,2)	0,10(0,1)	0,12(0,05)	0,10(0,01)	0,09(0,03)	0,10(0,02)	0,11(0,01)	0,08(0,01)	0,06 (0,01)
héxyle octanoate	herbacé, vert, huile	1801	1806	5,78	2,03(1,6)	38,60(5,9)	71,12(14,8)	60,82(6,0)	68,35(14,4)	155,88(58,0)	112,73(31,4)	154,38(30,8)	n.d.
éthyle phtalate		2328		2,42	0,24(0,1)	0,109(0,003)	0,38(0,2)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Alcools													
Ethanol	sucré	843	929	-0,31	n.d.	37,49(7,8)	49,15(4,8)	32,69(4,1)	20,20(0,7)	31,23(5,8)	34,87(6,0)	26,68(2,4)	30,61(10,5)
1-propanol	alcoolique	991	1037	0,25	n.d.	2,10(0,3)	1,98(0,4)	1,36(0,1)	0,83(0,2)	1,39(0,1)	1,87(0,3)	1,37(0,1)	1,34 (0,6)
1-propanol-2-méthyle		1064	1054	0,76	0,48(0,2)	11,99(1,9)	13,17(1,9)	7,85(0,6)	7,85(0,2)	9,63(0,5)	12,09(1,3)	8,02(1,0)	10,24 (3,1)
1-butanol	médicinal, fruit	1123	1113	0,84	1,37(1,3)	35,89(3,6)	39,52(5,0)	27,01(1,4)	25,81(0,8)	35,25(2,2)	34,47(3,5)	26,66(2,5)	49,98 (10,8)
1-butanol 2-méthyle	vin, malt, oignon	1189	1167	1,29	0,40(0,3)	16,86(2,8)	19,19(2,5)	11,31(0,5)	11,54(0,4)	13,85(0,6)	16,30(0,9)	12,51(1,0)	15,64 (2,2)
3-méthyle-3-buten-1-ol		1230	1226	1,25	22,05(11,8)	91,76(2,9)	128,09(10,9)	107,15(5,3)	74,49(3,3)	73,10(2,4)	122,59(11,4)	90,61(4,8)	102,49 (17,5)
3-méthyle-2-buten-1-ol	herbacé	1304	1337	1,17	1,60(1,0)	8,19(0,7)	10,72(1,0)	9,79(0,3)	7,28(0,4)	6,74(0,1)	10,15(0,6)	8,32(0,4)	6,67 (0,6)
2-heptanol	champignon	1308	1273	2,24	n.d.	1,57(0,2)	3,24(0,3)	3,72(0,2)	2,87(0,1)	1,65(0,1)	3,33(0,2)	2,86(0,1)	1,94 (0,2)
1-hexanol	résinifère, fleur, vert, herbe	1338	1339	2,03	4,64(4,4)	145,70(14,5)	141,89(14,7)	104,23(4,9)	101,41(4,7)	103,04(4,9)	108,00(6,4)	88,88(1,2)	136,14 (16,6)
1,3 butanediol		1514	1692	-0,29	n.d.	n.d.	n.d.	5,33(1,7)	2,41(1,0)	1,11(0,4)	3,88(1,4)	2,09(1,1)	0,97 (0,6)
2,3 butanediol	fruité	1557	1583	-0,92	n.d.	8,84(4,1)	11,82(3,9)	4,37(1,1)	1,80(0,6)	6,24(2,2)	5,84(1,9)	4,78(1,5)	5,70 (2,3)

propylène glycol		1562	1561		n.d.	n.d.	n.d.	0,43(0,03)	0,13(0,04)	0,18(0,03)	0,189(0,003)	0,12(0,04)	0,12 (0,01)
1 propanol, 3- [methythio]	sucré	1689	1708		0,96(1,1)	16,84(5,7)	18,21(3,6)	15,76(1,8)	10,02(2,4)	14,05(1,1)	16,37(2,8)	16,06(3,6)	11,83 (3,8)
benzyle alcool	fleur, fruité, sucré, rôti	1844	1822	1,1	0,38(0,2)	2,09(0,4)	2,22 (0,3)	3,54(0,3)	3,76(0,2)	2,86(0,1)	2,69(0,05)	3,25(0,3)	2,66 (0,6)
phényle éthyle alcool		1877	1859	1,36	0,37(0,3)	6,71(1,4)	6,14(0,7)	7,16(1,9)	4,79(0,9)	6,52(0,3)	5,28(0,5)	4,52(0,7)	2,64 (0,8)
1,5 hexanediol		1970		0,69	1,29(0,9)	13,98(5,7)	12,98(5,0)	9,06(3,6)	5,70(2,9)	11,02(2,5)	12,24(5,5)	9,91(4,0)	3,76 (2,2)
eugénol	clou de girofle, miel, cannelle	2128	2141	2,27	n.d.	0,51(0,05)	1,01(0,4)	1,43(0,2)	1,21(0,2)	1,32(1,2)	1,38(0,2)	1,42(0,1)	1,36 (0,2)
Cétones													
2-héptanone	savonneux, à viande	1159	1170	1,98	1,08(0,5)	1,57(0,1)	0,31(0,01)	0,21(0,01)	0,10(0,01)	1,67(0,2)	0,18(0,03)	0,59(0,05)	1,90 (0,1)
3-hydroxy-2- butanone	beurre, sucré	1257	1307		0,54(0,1)	4,57(0,8)	3,03(0,9)	1,42(0,4)	1,03(0,4)	3,78(0,2)	1,26(0,4)	2,00(0,1)	4,15 (0,6)
2[3H] furanone, 5 éthyle dihydro		1663		0,6	n.d.	1,25(0,9)	0,77(0,2)	0,73(0,2)	0,75(0,2)	1,12(0,02)	1,25(0,1)	1,06(0,1)	n.d.
Acides													
Acide acétique	vinaigre, fruit fermenté, désagréable	1425	1418	-0,17	10,01(1,8)	9,91(3,3)	43,91(44,2)	76,60(25,7)	94,81(35,5)	8,41(1,5)	104,09(16,5)	51,07(8,5)	43,85 (6,1)
2-méthyle propanoïque acide	beurre rance	1548	1563	1,24	2,81(1,9)	3,90(0,9)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	9,00 (1,2)
Acide butanoïque	rance, beurre, fromage	1602	1599	0,79	29,02(9,0)	12,85(5,8)	14,82(3,5)	23,94(3,5)	23,10(2,5)	32,10(6,6)	31,97(1,4)	48,50(4,6)	20,50 (3,5)
2-méthyle butenoïque acide	puant, sucré, séché, rance	1649	1665	1,49	9,68(4,3)	5,24(1,1)	5,97(0,5)	9,30(1,0)	9,31(0,6)	10,49(1,9)	6,31 (1,8)	5,94(1,1)	10,27 (1,9)
acide hexanoïque	Sucré, désagréable, rance, fromage,	1822	1836	1,92	296,45(70,9)	143,51(48,5)	140,67(13,8)	171,73(15,2)	133,22(8,0)	141,25(2,8)	151,24(13,2)	172,75(8,8)	336,02 (13,3)

	huileuse												
acide octanoïque	Sucré, désagréable, rance, fromage, huileuse	2041	2034	3,05	569,99(153,7)	422,26(109,9)	415,75(16,5)	424,60(26,7)	343,95(16,5)	400,93(64,2)	403,72(82,9)	457,83(44,9)	541,68 (41,4)
acide decanoïque	rance, huile	2252	2231	4,09	14,47(5,6)	17,02(2,6)	16,60(3,9)	13,41(1,0)	14,03(1,1)	18,85(3,9)	17,79(4,4)	19,79(3,7)	22,68 (8,9)
3-méthyle thiopropanoïque acide		2272			4,41(4,4)	n.d.	3,86(0,7)	6,01(0,6)	5,35(3,0)	4,46(0,8)	5,80(3,4)	6,17(3,3)	n.d.
acide palmitique		2909	2910	7,17	3,16(2,4)	2,41(0,4)	n.d.	6,07(3,6)	6,15(1,3)	6,22(0,5)	6,87(0,6)	6,11(0,9)	2,28 (1,3)
Miscellanées													
hexanamide		2080		0,8	n.d.	2,69(2,4)	0,68(0,7)	3,71(1,8)	3,02(2,0)	3,63(1,5)	2,31(0,9)	1,03(0,02)	5,21 (2,8)
phénol 2,4 bis [1,1-di méthyle éthyle]		2283			1,03(0,6)	0,55(0,2)	1,18(0,2)	1,32(0,1)	0,99(0,2)	1,17(0,2)	0,68(0,2)	0,68(0,1)	1,72 (0,9)

IR : indice de Kovats DB-WAX, KI* : Indices de Kovats de la littérature, n,d,: non déterminé, Log P: coefficient de partition de l'octanol-eau de la littérature

Les descripteurs de l'odeur ont été pris de la littérature

Tout d'abord et ce quel que soit l'échantillon testé, on constate que les acides carboxyliques et plus particulièrement l'acide hexanoïque et l'acide octanoïque représentent la majorité des composés volatiles (Tableau VIII). Ces deux acides carboxyliques représentent 70% des composés aromatiques présents dans le noni mûr et environ 45% de tous les composés aromatiques présents dans les échantillons de noni au cours de la période de sénescence. La présence de ces acides gras à chaîne courte explique l'odeur désagréable, présente surtout dans le fruit mûr. Les descripteurs de l'odeur de ces deux composés, les caractérisent comme désagréables, rances, huileuse et odeur à fromage vieilli. Au début de la sénescence, les concentrations en acide hexanoïque et en acide octanoïque décroissent légèrement, mais à la fin de cette période elles augmentent à nouveau.

Les esters de l'acide hexanoïque et octanoïque, surtout le méthyle hexanoate, l'éthyle hexanoate, le méthyle octanoate et l'éthyle octanoate (**Figure 9**, graphes A, B et C), représentent la fraction majoritaire des esters rencontrés dans le noni mûr et dans le noni au cours de la sénescence. Cependant, c'est dans le noni mûr que l'on retrouve la plus grande concentration de ces esters, une diminution de leur concentration est observée pendant la sénescence (Tableau VIII). Par ailleurs, les concentrations en hexyle hexanoate et hexyle octanoate ont augmenté significativement pendant la sénescence suite probablement à leur production par des voies métaboliques naturelles du processus de vieillissement.

Les alcools sont des composés volatils que l'on retrouve dans le noni surtout pendant la période de sénescence. La concentration en 1-hexanol augmente significativement de 4,6 µg/g de pulpe dans le noni mûr à environ 116 µg/g de pulpe dans le noni pendant la sénescence. Celle du 3-méthyle-3-buten-1-ol passe de 22 µg/g de pulpe dans le noni mûr à 99 µg/g de pulpe dans le noni pendant la sénescence.

En général, les changements les plus significatifs dans la composition en composés volatils identifiés sont observés au cours des premières semaines de sénescence. Pendant cette période, la concentration de quelques composés augmentent (hexyle hexanoate) ou diminuent (méthyle hexanoate) et d'autres composés apparaissent (3-méthyle butyle octanoate) ou disparaissent (diéthyle malonate).

III. Choix de la préparation enzymatique pour la liquéfaction enzymatique des parois cellulaires

Le but de ces essais est d'optimiser la liquéfaction enzymatique des parois cellulaires du noni mur au stade blanc translucide.

5 Au cours des traitements de clarification, des enzymes pectinolytiques ont été ajoutées pour améliorer la production du jus et faciliter sa clarification. Le prétraitement enzymatique des jus permet de réduire à la fois la viscosité pour faciliter les post-traitements de filtration ; la dépectinisation est donc nécessaire pour augmenter le flux lors de l'application de la technique de clarification par membranes.

10 En général des préparations commerciales de pectinases sont ajoutées à des concentrations variant de 0,005% à 0,015% et la durée du traitement varie de 6 à 8h à une température comprise entre 15 et 20°C ou de 1 à 2h à une température comprise entre 45 et 55°C. Le détail du plan d'expérience et du protocole mis en œuvre figure au paragraphe I.16, ci-avant.

15 Dans le cas de noni et au regard des caractéristiques chimiques de la MIA (en particulier sa richesse en pectine, cellulose et acides galacturoniques), le cocktail enzymatique à privilégier devra contenir des quantités importantes de pectinase (polygalacturonase et/ou pectine-lyase) et de cellulase (endo-cellulase et/ou exo-cellulases).

20 Sept préparations enzymatiques commerciales utilisées dans l'industrie ont été testées en mesurant leur effet de solubilisation sur la filtrabilité des jus, la **Figure 10** montre le volume de jus de noni obtenu au cours de 25 minutes de filtration après le traitement enzymatique (200 µl de mélange enzymatique.kg⁻¹ pulpe de noni pendant 60 minutes à température ambiante) (les valeurs numériques représentent l'augmentation de
25 volume par rapport au volume du témoin non traité).

Les meilleurs rendements d'extraction de la pulpe de noni mûr, sont obtenus avec les mélanges Clarex-citrus 12 XL®, Rapidase-TF® et Klerzym-150®. Par rapport au volume de filtrat récupéré à partir de pulpe de noni non traitée, ces trois mélanges enzymatiques ont produit plus de 18 fois le volume drainé pendant la filtration.

30 Afin d'optimiser le traitement de liquéfaction du jus, un plan d'expériences centrale composé a été mis en œuvre pour départager les trois préparations présélectionnées et en faisant varier la concentration en enzyme et le temps de réaction. Après hydrolyse, les échantillons ont été filtrés à 28±1°C pour la température pendant 25

minutes. L'efficacité du traitement enzymatique a été évaluée à la fois en terme de rendement d'extraction en jus (Tableau IX), en fonction de la turbidité du jus (Tableau X) qui est un indicateur pertinent de la filtrabilité en microfiltration tangentielle, puis finalement en fonction de la viscosité (Tableau XI).

5 Les résultats montrent que le traitement réalisé avec la préparation Klerzym-150® permet un rendement extraction supérieur et l'obtention de jus moins troubles.

10 **Tableau IX.** Rendements en jus de noni obtenus en 25 minutes de filtration après traitement enzymatique avec les cocktails testés (résultats du deuxième plan d'expérience).

Temps (min)	Concentration (µg/ml)	Rendement (%)		
		Klerzym-150®	Rapidase-TF®	Clarex-citrus 12 XL®
23,08	150	7,9	6,2	10,5
50	50	5,8	4,8	8,7
50	250	18,3	11,5	16,4
115	8,58	3,3	2,1	3,2
115	150	26,3	17,15	22
115	291,42	24,2	20,6	22,7
180	50	13,6	8,5	14,6
180	250	25,5	21,1	23,5
206,92	150	27,4	24,2	25,7

Tableau X. Turbidité des jus de noni récupérés au cours des 25 minutes de filtration en fonction du traitement enzymatique testé (résultats du plan d'expérience utilisant comme point central 60 minutes et 100 µl.kg⁻¹ de pulpe).

Temps (min)	Concentration (µl/Kg pulpe)	Turbidité (NTU)		
		Klerzym-150®	Rapidase-TF®	Clarex-citrus 12 XL®
17,57	100	213	369	331
30	50	446	531	545
30	250	253	360	163

60	29,29	205	571	268
60*	100*	158*	498*	219*
60	170,71	267	453	164
90	50	253	282	288
90	150	143	271	170
102,43	100	153	125	178

* Moyenne de 5 répétitions

Tableau XI. Viscosité du jus de noni traité avec les trois mélanges enzymatiques testés (résultats du deuxième plan d'expérience).

Temps (min)	Concentration (μ l/Kg pulpe)	Klerzym-150®	Rapidase-TF®	Clarex-citrus 12 XL®
		(cpoise)		
23,08	150	40,26	41,61	40,95
50	50	41,49	43,80	41,45
50	250	41,25	43,70	39,73
115	8,59	52,44	59,81	42,63
115	150	39,62	44,54	40,41
115	291,42	38,96	42,87	39,51
180	50	43,39	49,12	41,76
180	250	39,67	40,18	41,45
206,92	150	39,37	42,97	39,79

5 Pour la préparation commerciale Klerzyme-150®, l'analyse du rendement en fonction de la concentration en enzymes utilisée et le temps d'incubation a permis d'établir le graphe de la **Figure 11** qui représente la surface de réponse du rendement du cocktail enzymatique Klerzyme-150® en relation à la concentration et temps d'activité dans la pulpe de noni mûr.

10 Ainsi, il apparait que les conditions optimales de traitement ont été déterminées en utilisant les résultats du plan d'expérience précédent. Dans ces conditions,

l'optimum correspond à l'utilisation de 200 ml.kg⁻¹ de fruit et 150 minutes de macération avec une faible agitation.

IV. Microfiltration tangentielle du jus de noni

IV.1. Essais à l'échelle pilote

5 Après récolte, les fruits de noni verts ont été conservés pendant trois jours à température ambiante, puis ils ont été déulpés à l'aide d'une raffineuse. Le rendement en jus de cette première étape a été élevé (82%), les rejets correspondant essentiellement aux graines et au résidu de pulpe adhérant à ces dernières. La pulpe récupérée a été additionnée d'enzymes (200 µl.kg⁻¹ du produit Klerzyme-150®) et laissée
10 150 minutes à température ambiante (28°C±1°C) puis pressée pour obtenir le jus à microfiltrer. Le rendement en jus de cette seconde étape a été de 73%. Le rendement total de production de jus de noni mûr traité enzymatiquement a été de 60% (Tableau XII ci-dessous).

15 **Tableau XII.** Rendements de production du jus de noni mûr pour les essais de microfiltration (traitement enzymatique : Klerzyme-150® à 200 µl.kg⁻¹ pulpe et 150 minutes d'action).

Etapes	Rendement (%)
Etape 1 : récupération de la pulpe	82 (2)
Etape 2 : traitement enzymatique de la pulpe	73 (5)
Procédé global	60 (6)

Pour les conditions opératoires de la microfiltration tangentielle (MFT), la température moyenne d'alimentation est fixée à 35°C. La vitesse tangentielle a été fixée ici à 5 m.s⁻¹. La pression transmembranaire, facteur également important pour les
20 performances du procédé de microfiltration a variée en fonction des expériences réalisées. Le Tableau XIII récapitule les conditions opératoires des essais de microfiltration réalisées.

Tableau XIII. Conditions opératoires des essais de MFT du jus de noni mûr.

Paramètres	Valeurs
Suspension filtrée :	50 l de pulpe de noni prétraitée par voie enzymatique (200 µl.kg ⁻¹ pulpe de Klerzyme-150®-DMS 150 minutes à 28 ± 1°C)
Vitesse tangentielle (U)	7 m.s ⁻¹

Température de filtration (T)	35 °C
Pression transmembranaire (Ptm)	Variable 0,9 bar – 1,325 bar – 2,125 bar

Effet de la pression transmembranaire (Ptm)

Les flux de perméat en fonction du temps obtenus lors des essais de microfiltration sont présentés dans la **Figure 12**.

Les valeurs des flux obtenus pour les trois essais réalisés à différentes Ptm sont comprises entre 100 à 160 l.h⁻¹.m⁻². Ces valeurs sont importantes et très supérieures à celles obtenues lors d'essais de MFT avec d'autres fruits.

On constate qu'au-delà d'une valeur optimale (Ptm_{optimale}) correspondant environ à 1,3 bar, le flux n'augmente plus avec la Ptm. Par conséquent, la mise en œuvre de la MFT à des pressions supérieures à cette valeur optimale, n'entraînera que des augmentations de coût de fonctionnement et des risques accrus de colmatage suite à la compaction des dépôts.

Par ailleurs, on constate que pour toutes les conditions opératoires testées il a été possible d'atteindre des Facteurs de Réduction Volumique (FRV) supérieurs à 10 correspondants à des rendements en jus clarifié supérieurs à 90% par rapport au jus initial.

En conclusion, on constate que globalement, les performances obtenues lors de la microfiltration du jus de noni sont très intéressantes si on les compare à celles obtenues lors de la microfiltration de jus de divers fruits (Tableau XIV). Les valeurs des flux (de l'ordre de 100 à 160 L.h⁻¹.m⁻²) de même que les rendements (93%) sont dans les plus élevées. L'importance de la mise en œuvre d'un prétraitement de la pulpe n'est pas à mettre en doute si on rappelle le résultat d'essais préliminaires réalisés sur de la pulpe non traitée. Les performances obtenues alors étaient respectivement égales à 30 l.h⁻¹.m⁻² pour le flux de perméat, 3 pour le FRV et enfin de 67% pour le rendement.

Tableau XIV. Comparaison de différents jus de fruits microfiltrés

Jus de fruit clarifié	Turbidité (NTU)	Flux (l.h ⁻¹ .m ⁻²)	FRV	Rendement (%)
Noni	1,2 ± 0,2	100-160	10-12	92
Ananas (Gold)	0,9 ± 0,1	70	8	88
Orange (Valencia) ^b	1,0 ± 0,1	62	3,5	71
Citron (Messino)	0,7 ± 0,1	105	5,5	80
Pastèque	0,9 ± 0,1	120	6	85
Banana (Great Dwarf)	0,7 ± 0,1	100	15	93
Melon (Cantaloupe) ^f		80	3	67

Mure (Vino)	$0,6 \pm 0,1$	70	4	75
	$0,4 \pm 0,1$			

^bCisse *et al.*, 2005., ^fVaillant *et al.*, 2005.

IV.2. Essais à l'échelle semi-industrielle

Afin de valider le procédé dans sa globalité, des essais ont été réalisés à l'échelle semi-industrielle en intégrant toutes les étapes décrites précédemment.

5 Des fruits verts et sains ont été collectés manuellement, puis lavés avec de l'eau potable et désinfectés par immersion dans une solution d'hypochlorite de sodium (200 ppm / 5 min). Les fruits ont ensuite été stockés à température ambiante (25°C) pendant 3 jours, période pendant laquelle le fruit développe une couleur blanchâtre translucide. Les fruits sont alors dépulpés à l'aide d'une passoire rotative (2 mm) pour

10 éliminer les graines et les fibres grossières. La purée obtenue de noni est alors macérée avec des enzymes commerciales (dose comprise 50 et 200 ml/tonne de purée) pour un temps compris entre 30 et 150 minutes et à une température entre 30 et 50°C. La purée macérée est ensuite pressée dans un filtre presse à une pression entre 2 et 10 bars. Le jus pulpeux obtenu est alors microfiltré en utilisant un équipement semi-industriel constitué

15 par des membranes céramiques tubulaire de 0,2 m² (Membralox®, Pall) et de diamètre de pore de 0,2 µm. Les pressions transmembranaires utilisées s'échelonnent entre 1 et 3 MPa, la vitesse tangentielle avoisine les 5 m.s⁻¹ et la température est contrôlée entre 30 et 40°C. Pendant la filtration, le flux de perméat se maintient autour de 150 l/h.m² pour 2 MPa de pression transmembranaire jusqu'à un facteur de réduction volumique de 10 correspondant

20 à un rendement en jus microfiltré de 90% par rapport au volume de jus initial. Ce rendement est obtenu au bout d'une heure et demie de filtration. Ensuite, en continu est extrait du rétentat (purée riche en fibre) à raison d'environ 15 l.h⁻¹.m⁻² de surface filtrante et dans le même temps, on extrait 150 l.h⁻¹.m⁻² de jus clarifié microfiltré. Ce régime d'extraction et d'alimentation continu peut durer plusieurs heures. Au total l'équipement

25 de microfiltration est alimenté en continu avec 165 l.h⁻¹.m⁻² de jus pulpeux provenant du filtre presse. Le jus prélevé de façon aseptique en sortie du module de filtration est ensuite conditionné en bouteille de verre. Optionnellement il peut être pasteurisé. Dans les deux cas, une période de quarantaine est observée pour vérifier la qualité du jus embouteillé avant la commercialisation.

Qualité des jus obtenus par le procédé

Les paramètres physico-chimiques du jus de noni initial, des permeat et rétentat obtenus en fin de MFT (FRV compris entre 10 et 12) sont rapportés dans le Tableau XV. Aucun effet de la pression transmembranaire sur les SST, le pH et l'humidité n'a été mis en évidence. Les valeurs des caractéristiques physico-chimiques étudiées sont similaires quelle que soit la valeur de la pression transmembranaire appliquée.

Tableau XV. Caractéristiques physico-chimiques de jus de noni microfiltré a trois pressions transmembranaires

Analyses	Pression transmembranaire (bar)		
	0,9	1,3	2,1
SST (°Brix)			
jus brut	7,2 (0,3) ^a	7,5 (0,5) ^a	6,9 (0,9) ^a
pérmeat	7,3 (0,5) ^a	6,9 (0,1) ^b	6,8 (1) ^a
rétentat	8,4 (0,7) ^b	7,8 (0,3) ^a	7,0 (1) ^a
pH			
jus brut	3,62 (0,02) ^a	3,56 (0,03) ^a	3,53 (0,08) ^a
pérmeat	3,62 (0,01) ^a	3,56 (0,02) ^a	3,52 (0,09) ^a
rétentat	3,61 (0,02) ^a	3,55 (0,01) ^a	3,57 (0,1) ^a
Humidité (%)			
jus brut	93,7 (0,4) ^a	93,2 (0,5) ^a	93,5 (0,9) ^a
pérmeat	94,0 (0,6) ^a	93,9 (0,4) ^a	93,6 (0,8) ^a
rétentat	92,5 (0,3) ^b	91,5 (0,2) ^b	91,4 (1) ^b
Matière sèche (g.100g ⁻¹)			
jus brut	6,3 (0,4) ^a	6,8 (0,6) ^a	6,5 (1) ^a
pérmeat	6,0 (0,7) ^a	6,8 (0,7) ^a	6,3 (0,9) ^a
rétentat	7,5 (0,4) ^b	7,8 (0,8) ^b	8,6 (1) ^b

V. Effet de la microfiltration tangentielle sur les propriétés du jus de noni

V.1. Composés phénoliques et propriétés antioxydantes du jus de Noni

Les résultats de la détermination du pouvoir antioxydant (Tableau XVI) montrent qu'il n'y a pas de différences statistiquement significatives ($P < 0,05$) entre le jus d'alimentation et le perméat, ce qui indique que la microfiltration quelle que soit la pression transmembranaire, ne retient pas de composés qui participent au pouvoir antioxydant du jus de noni. Même si on observe une légère rétention des composés phénoliques dans le rétentat, celle-ci n'a qu'un faible impact sur le pouvoir antioxydant du perméat. Cette rétention s'avère plus significative aux fortes pressions, alors qu'à faible Ptm de 0,9 bar, on n'observe pas de phénomènes de rétention significatifs ($P < 0,05$).

L'analyse de l'acide L-ascorbique montre que la MFT n'a pas d'effet particulier sur ce composé, la MFT n'affectant que très peu la teneur en acide L-ascorbique dans le jus.

L'effet de la MFT à différentes Ptm sur la teneur en rutine et scopolétine est aussi mon significatif, ce qui corrobore également le fait que la capacité antioxydante du jus microfiltré reste similaire au jus d'alimentation.

La comparaison avec les propriétés antioxydantes des noni et leur composition en composés phénoliques permet de montrer que le procédé global de préparation de jus de noni selon l'invention ne présente aucun effet délétère sur ses propriétés antioxydantes et sur sa composition en composés phénoliques.

Tableau XVI. Détermination du pouvoir antioxydant, contenu de polyphénols, acide L-ascorbique, scopolétine et rutine dans le jus d'alimentation, le perméat et rétentat à différentes Ptm.

	ORAC ^A (μmol Trolox [®] .g-1)	Polyphénols ^B (mg GAE.100 g-1 jus)	Acide L- ascorbique ^C (mg.100 g-1 jus)	Scopolétine ($\mu\text{g.g-1}$)	Rutine ($\mu\text{g.g-1}$)
Pression 90 kPa					
jus brut	6,9 (0,6)a	56,2 (19,6)a	28,8 (5,8)a	9,9 (1,8) a	21,8 (1,9) a
perméat	6,1 (0,5)a,b	53,4 (6,6)a	40,5 (6,6)a	7,4 (1,4) a	21,2 (2,1) a
rétenant à FRV 10	7,5 (1,0)b	62,0 (11,1)a	39,2 (13,1)a	9,4 (0,7) a	17,8 (0,9) a
Pression 130 kPa					
jus brut	8,0 (0,3)a	64,2 (18,9)a	51,3 (36,2)a	7,8 (1,3) a	18,3 (0,7) a
perméat	8,2 (0,8)a	44,4 (1,9)b	12,6 (4,8)b	7,5 (0,9) a	15,2 (1,5) a
rétenant à FRV 10	8,5 (2,0)a	59,6 (9,0)a,b	34,4 (18,0)a,b	7,2 (1,5) a	17,2 (0,5) a
Pression 210 kPa					
jus brut	6,3 (0,1)a	48,6 (7,9)a	17,6 (5,5)a	7,6 (0,4) a	22,8 (0,6) a
perméat	6,2 (0,8)a	47,1 (12,3)a	25,6 (1,1)a	7,5 (0,2) a	21,6 (1,1) a
rétenant à FRV 10	9,1 (1,0)b	61,9 (14,3)a	15,6 (11,3)a	6,1 (1,8) a	20,3 (0,9) a

^A ORAC est la capacité d'absorbance du radical oxygène et elle est exprimé en μmol de Trolox® par gramme de jus.

^B Exprimés en milligrammes d'équivalent acide gallique (GAE) par 100 g de jus.

5 ^C Déterminé par la méthode de FOLIN.

^{a,b,c,d,e} Les valeurs dans les colonnes suivies par la même lettre ne sont pas significativement différentes à $P < 0,05$ (Test de Duncan)

V.2. Impact sur les composés volatils du jus de noni

10 L'identification des composés volatils dans le jus de noni après enzymage a mis en évidence la présence des composés identiques à ceux de la pulpe de noni mûr. On retrouve ainsi majoritairement des acides hexanoïque et octanoïque et leurs esters (Tableau XVII). Cependant au cours de la MFT, les composés avec un Log P (coefficient de partition de l'octanol-eau) élevé, comme les esters : méthyle décanoate, hexyle décanoate, butyle hexanoate, hexyle butanoate, méthyle octanoate, éthyle
15 octanoate et les acides hexanoïque, octanoïque et decanoïque sont concentrés dans le retentat, alors que les composés avec un Log P faible, comme les alcools et certains acides et esters ne sont pas retenus par la membrane. La rétention des composés à Log P élevé donc peu polaires, peut s'expliquer par des interactions de type hydrophobe entre ces composés et la pulpe retenue par la membrane.

20 En conclusion, la MFT modifie favorablement la composition en composés volatils en permettant la réduction des composés qui donnent des odeurs désagréables. Des tests d'analyse sensorielle montrent, également une modification ressentie comme positive par rapport au jus frais.

V.3. Stabilité microbiologique

25 La flore aérobie totale a été évaluée sur une période d'un an. Cette étude montre que le jus de noni préparé selon le procédé selon l'invention reste stable microbiologiquement pendant au moins un an.

Tableau XVII. Effet de la microfiltration sur les composés volatiles du jus de noni (exprimé en µg/g de jus, de perméat ou de rétentat)

Composés volatils	Descripteur de l'odeur	IR	IR*	Log P	Pression 0,9 bar			Pression 1,3 bar			Pression 2,1 bar		
					Jus initial	Permeat	Rétentat	Jus initial	Permeat	Rétentat	Jus initial	Permeat	Rétentat
Esters													
méthyle butanoate	sucré, fruit gâté, beurre	950	975	1,29	1.40 (0.03)	0.96 (0.13)	0.92 (0.22)	1.82 (0.33)	1.51 (0.09)	1.67 (0.29)	1.48 (0.15)	1.66 (0.36)	2.39 (1.28)
éthyle butanoate	pomme, fruité, comme à ester, sucré	980	1001	1,85	0.84 (0.06)	0.66 (0.04)	0.51 (0.49)	1.13 (0.17)	0.83 (0.09)	1.19 (0.32)	0.95 (0.09)	0.91 (0.15)	1.62 (0.48)
méthyle hexanoate	noix de cajou, sucré, eucalyptus, fruité	1116	1185	2,34	7.28 (1.55)	3.29 (0.08)	14.13 (2.51)	9.05 (0.66)	4.57 (1.10)	18.02 (11.3)	8.48 (0.14)	5.54 (1.02)	27.97 (7.27)
éthyle hexanoate	fruité, sucré, noix de cajou, menthe	1162	1212	2,83	2.58 (0.85)	0.72 (0.02)	7.13 (0.51)	2.93 (0.38)	1.01 (0.45)	8.21 (4.72)	3.19 (0.01)	1.13 (0.26)	13.73 (3.80)
méthyle octanoate	orange, vert	1316	1389	3,32	10.36 (1.20)	1.63 (1.15)	48.07 (10.8)	9.75 (1.40)	0.85 (0.12)	53.31 (48.7)	9.98 (1.72)	1.73 (0.45)	93.92 (28.0)
butyle hexanoate	Fruit gâté	1338	1350	3,81	0.55 (0.23)	n.d.	3.45 (1.08)	0.69 (0.20)	n.d.	2.54 (1.57)	0.77 (0.08)	n.d.	4.30 (1.72)
hexyl butanoate	Peau de pomme	1339	1393	3,81	0.63 (0.19)	n.d.	1.26 (1.59)	0.52 (0.15)	n.d.	1.97 (0.71)	0.69 (0.10)	n.d.	4.06 (3.41)
éthyle octanoate	Fruit mûr, noix de coco, florale, huile	1360	1423	3,81	3.57 (1.97)	0.22 (0.03)	20.13 (1.51)	3.89 (0.76)	0.28 (0.15)	20.07 (14.0)	4.69 (0.38)	0.34 (0.08)	37.44 (18.6)
4-pentenyle hexanoate		1462			1.77 (0.59)	0.34 (0.15)	11.22 (4.41)	2.37 (0.27)	0.18 (0.02)	12.88 (11.8)	2.19 (0.01)	0.24 (0.08)	19.21 (5.68)
3-[méthythio] méthyle propanoate		1469			1.15 (0.37)	1.29 (0.22)	0.99 (0.21)	1.06 (0.04)	1.24 (0.34)	1.15 (0.35)	0.99 (0.14)	1.43 (0.20)	1.77 (0.77)
3-[methythio] propanoic acid ethyl ester		1508			0.29 (0.21)	0.51 (0.12)	0.50 (0.02)	0.40 (0.18)	0.33 (0.12)	0.50 (0.18)	0.21 (0.09)	0.26 (0.04)	0.33 (0.17)

3-méthyle 2-butenyle hexanoate		1515			0.12 (0.05)	n.d.	0.99 (0.38)	0.21 (0.01)	n.d.	1.14 (1.00)	0.18 (0.03)	n.d.	1.79 (0.64)
méthyle decanoate	vin, huileux	1521	1591	4,41	0.21 (0.10)	n.d.	1.75 (0.92)	0.29 (0.09)	n.d.	1.88 (1.70)	0.25 (0.04)	n.d.	3.27 (1.31)
3-méthyle butyle octanoate		1579	1671	5,21	0.37 (0.09)	n.d.	1.42 (0.21)	0.37 (0.13)	n.d.	1.54 (0.49)	0.45 (0.02)	n.d.	3.17 (2.69)
héxyle octanoate	herbacé, vert, huile	1731	1806	5,78	5.00 (1.59)	0.16 (0.02)	15.45 (2.19)	4.02 (2.78)	n.d.	13.53 (0.14)	6.06 (0.09)	0.15 (0.05)	36.58 (39.7)
éthyle phthalate		2322		2,42	3.40 (0.78)	2.31 (1.03)	3.93 (2.06)	2.58 (0.40)	3.73 (0.65)	3.19 (0.80)	3.12 (1.16)	2.90 (0.79)	3.92 (0.58)
Alcools													
1-propanol-2-méthyle		1033	1054	0,76	0.47 (0.10)	0.40 (0.03)	0.32 (0.16)	0.41 (0.11)	0.45 (0.08)	0.34 (0.12)	0.44 (0.05)	0.39 (0.05)	0.28 (0.09)
1-butanol	médicinal, fruit	1087	1113	0,84	9.37 (2.55)	7.23 (2.25)	5.38 (4.25)	6.67 (4.44)	7.78 (5.00)	5.74 (5.07)	8.68 (1.58)	6.87 (1.44)	3.38 (0.50)
1-butanol 2-méthyle	vin, malt, oignon	1148	1167	1,29	2.53 (0.68)	1.85 (0.85)	1.47 (0.96)	1.78 (1.14)	1.98 (1.45)	1.88 (0.92)	2.32 (0.38)	1.77 (0.40)	1.33 (0.23)
3-méthyle-3-buten-1-ol		1226	1226	1,25	59.47 (11.2)	48.97 (5.0)	42.99 (20.8)	48.10 (15.5)	50.07 (24.4)	46.35 (19.2)	55.29 (5.31)	51.54 (4.9)	40.96 (2.61)
3-méthyle-2-buten-1-ol	herbacé	1268	1324	1,17	4.85 (1.08)	4.16 (0.20)	4.68 (1.24)	4.07 (0.87)	3.92 (1.62)	4.96 (0.39)	4.38 (0.42)	4.27 (0.32)	5.49 (0.82)
1-hexanol	résinifère, fleur, vert, herbe	1292	1339	2,03	27.20 (5.27)	16.04 (12.3)	14.70 (14.5)	17.59 (15.9)	18.67 (18.1)	16.64 (15.6)	26.15 (3.78)	13.54 (8.65)	11.61 (9.21)
1 propanol, 3-[methythio]	sucré	1675	1708		5.90 (1.71)	4.54 (1.88)	3.58 (2.11)	4.14 (2.48)	4.63 (3.52)	4.01 (2.68)	5.29 (0.85)	4.08 (1.27)	2.75 (0.27)
benzyle alcool	fleur, fruité, sucré, rôti	1838	1822	1,1	1.66 (0.39)	1.29 (0.37)	1.07 (0.52)	1.24 (0.48)	1.29 (0.83)	1.22 (0.62)	1.48 (0.14)	1.35 (0.28)	1.06 (0.21)
phényle éthyle alcool		1873	1859	1,36	0.81 (0.20)	0.91 (0.14)	0.65 (0.22)	0.71 (0.09)	0.79 (0.29)	0.62 (0.18)	0.72 (0.07)	1.02 (0.24)	0.48 (0.15)
1,5 hexanediol (2,6 dihydroxyhexane)		1965		0,69	0.29 (0.01)	0.51 (0.36)	0.46 (0.04)	0.40 (0.21)	0.36 (0.01)	0.49 (0.13)	0.27 (0.02)	0.66 (0.34)	0.42 (0.23)
Acides													

Acide acétique	vinaigre, fruit fermenté, désagréable	1422	1418	-0,17	6.53 (1.13)	11.86 (7.54)	9.12 (3.40)	8.96 (3.67)	9.32 (1.09)	9.18 (3.34)	6.05 (0.45)	14.84 (7.17)	11.31 (6.03)
2-méthyle propanoïque acide	beurre rance	1532	1563	1,24	8.26 (0.86)	5.59 (1.13)	20.33 (0.38)	8.55 (2.23)	4.80 (1.26)	20.11 (3.45)	8.89 (1.76)	5.88 (0.90)	36.91 (26.9)
Acide butanoïque	rance, beurre, fromage	1592	1599	0,79	38.67 (5.33)	46.35 (15.7)	39.32 (0.83)	39.71 (1.98)	40.89 (6.11)	39.66 (0.64)	36.60 (2.41)	50.50 (8.60)	41.23 (14.0)
2-méthyle butenoïque acide	puant, sucré, séché, rance	1633	1665	1,49	18.08 (2.29)	19.39 (3.94)	17.06 (1.68)	17.44 (1.44)	17.37 (4.67)	17.58 (1.75)	17.46 (1.41)	21.15 (2.64)	17.85 (3.97)
3 methyl-3-butenic acid		1788			4.15 (0.73)	3.23 (0.91)	3.07 (2.03)	3.12 (1.51)	3.38 (2.35)	2.93 (1.84)	3.91 (0.40)	3.30 (0.99)	2.26 (0.44)
acide hexanoïque	Sucré, désagréable, rance, fromage, huileuse	1807	1836	1,92	218.90 (5.63)	177.82 (33.9)	206.9 (73.0)	258.11 (80.6)	206.13 (12.3)	227.62 (42.2)	212.01 (15.4)	197.20 (30.4)	272.77 (102)
acide heptanoïque		1917	1915	2,42	1.06 (0.26)	0.69 (0.08)	1.66 (0.14)	1.01 (0.19)	0.75 (0.26)	1.77 (0.65)	1.19 (0.07)	0.91 (0.06)	2.79 (0.79)
acide octanoïque	Sucré, désagréable, rance, fromage, huileuse	2021	2034	3,05	257.13 (43.8)	163.93 (18.5)	368.1 (80.0)	301.73 (69.7)	181.17 (2.03)	385.75 (63.1)	270.30 (25.2)	187.16 (12.7)	564.02 (158)
acide decanoïque	rance, huile	2233	2231	4,09	7.94 (5.51)	0.44 (0.17)	45.46 (11.9)	8.23 (0.51)	n.d.	44.34 (35.1)	10.21 (2.30)	0.45 (0.10)	80.61 (40.6)
3-méthyle thiopropanoïque acide		2289			16.56 (1.63)	17.25 (3.21)	14.50 (0.74)	15.40 (0.72)	16.12 (5.22)	16.31 (1.92)	15.66 (0.35)	20.32 (3.58)	17.69 (5.02)
2[3H] furanone, 5 buthyl dihydro		1880		1,59	0.67 (0.04)	1.03 (0.70)	1.00 (0.25)	0.80 (0.21)	0.75 (0.12)	1.02 (0.48)	0.65 (0.01)	1.31 (0.63)	1.16 (0.48)
hexanamide		2085		0,8	0.82 (0.03)	0.53 (0.03)	0.88 (0.14)	3.20 (3.18)	0.89 (0.16)	0.87 (0.30)	0.90 (0.08)	0.57 (0.03)	1.10 (0.34)

IR : indice de Kovats DB-WAX, KI* : Indices de Kovats de la littérature, n.d.; non déterminé, Log P: coefficient de partition de l'octanol-eau de la littérature

Les descripteurs de l'odeur ont été pris de la littérature

REVENDECATIONS

1. Procédé de préparation de jus de noni comprenant les étapes de :

a) broyage de fruits de noni lorsqu'ils sont au stade de maturité blanc translucide pour produire une purée de fruits de noni ;

5 b) traitement enzymatique de ladite purée de fruits de noni avec une préparation enzymatique présentant au moins une activité pectinase, correspondant à une activité polygalacturonase (EC 3.2.1.15) supérieure à 4 UI.ml⁻¹ et/ou une activité pectinolyase (EC 4.2.2.10) supérieure à 3 UI.ml⁻¹, et au moins une activité cellulase correspondant à une activité endo-cellulase (EC 3.2.1.4) supérieure à 20 UI.ml⁻¹ et/ou activité exo-
10 cellulases (EC 3.2.1.91) supérieure à 4 UI.ml⁻¹, à une teneur comprise entre 50 à 300 ml/tonne de purée de fruits de noni à une température comprise entre 20 et 55°C pendant au moins 30 minutes ;

c) élimination de la pulpe et des graines présentes dans les fruits de noni par pressage de ladite purée conduisant à un premier jus ;

15 d) tamisage ou filtration grossière dudit premier jus obtenu à l'issue de l'étape c) conduisant à un second jus ;

e) microfiltration ou ultrafiltration tangentielle sur membrane céramique tubulaire de seuil de coupure inférieur ou égal à 0,5 µm dudit second jus obtenu à l'issue de l'étape d).

20 2. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que les fruits du noni sont lavés et désinfectés avant l'étape a) de broyage.

3. Procédé selon la revendication 1 ou la revendication 2, caractérisé en ce que l'étape b) de traitement enzymatique est réalisée sous agitation.

25 4. Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que ladite préparation enzymatique est utilisée à une concentration comprise entre 150 et 300 ml/tonne de fruits.

5. Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce que l'étape e) de microfiltration est mise en œuvre en appliquant une pression transmembranaire comprise entre 0,5 et 3 bars.

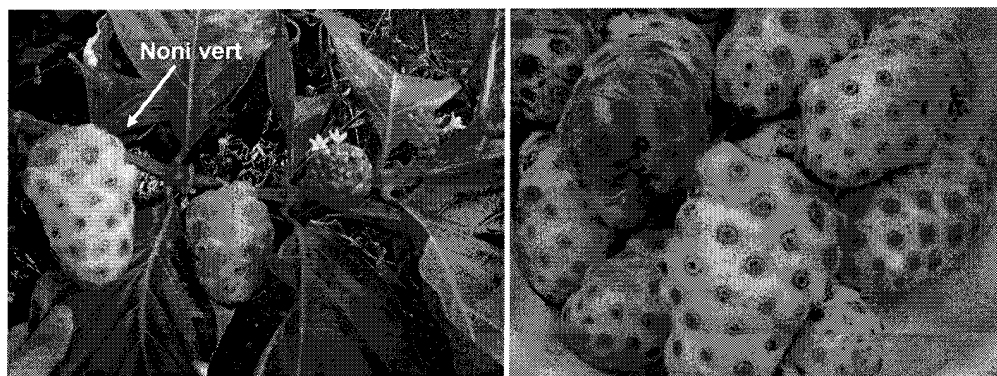
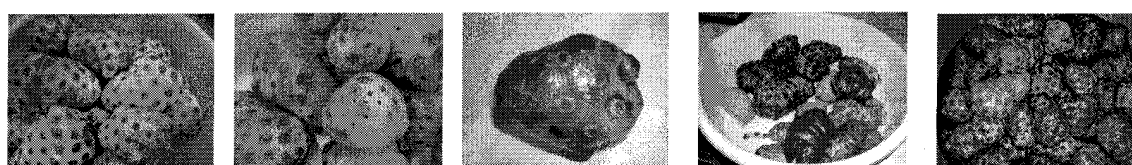


Figure 1



cliché 1

cliché 2

cliché 3

cliché 4

cliché 5

Figure 2

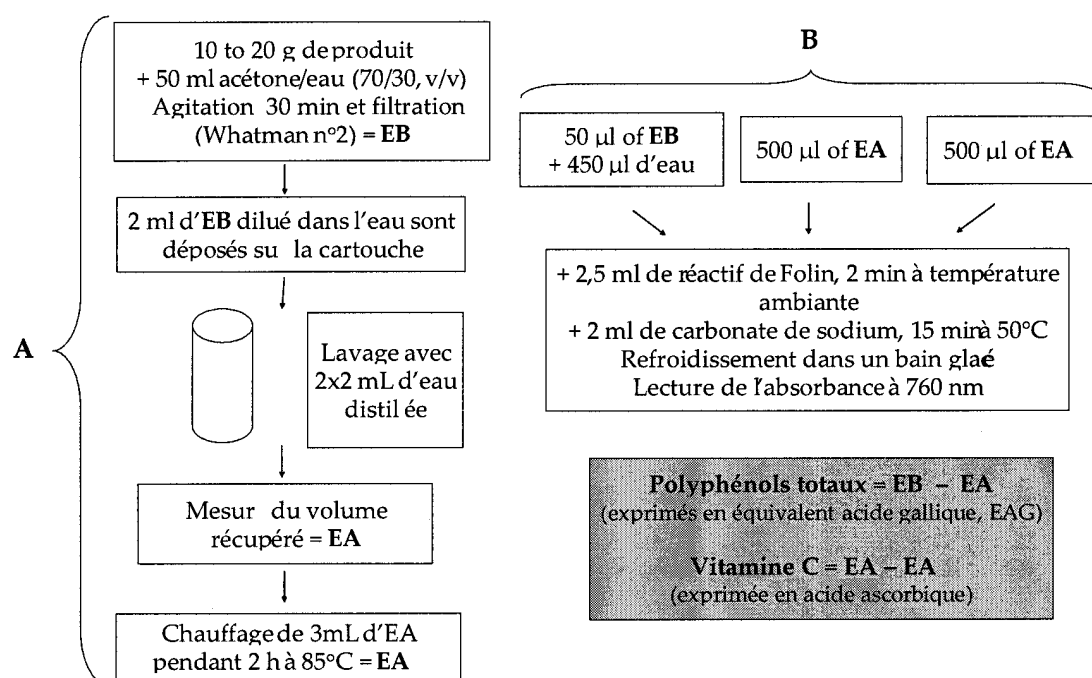
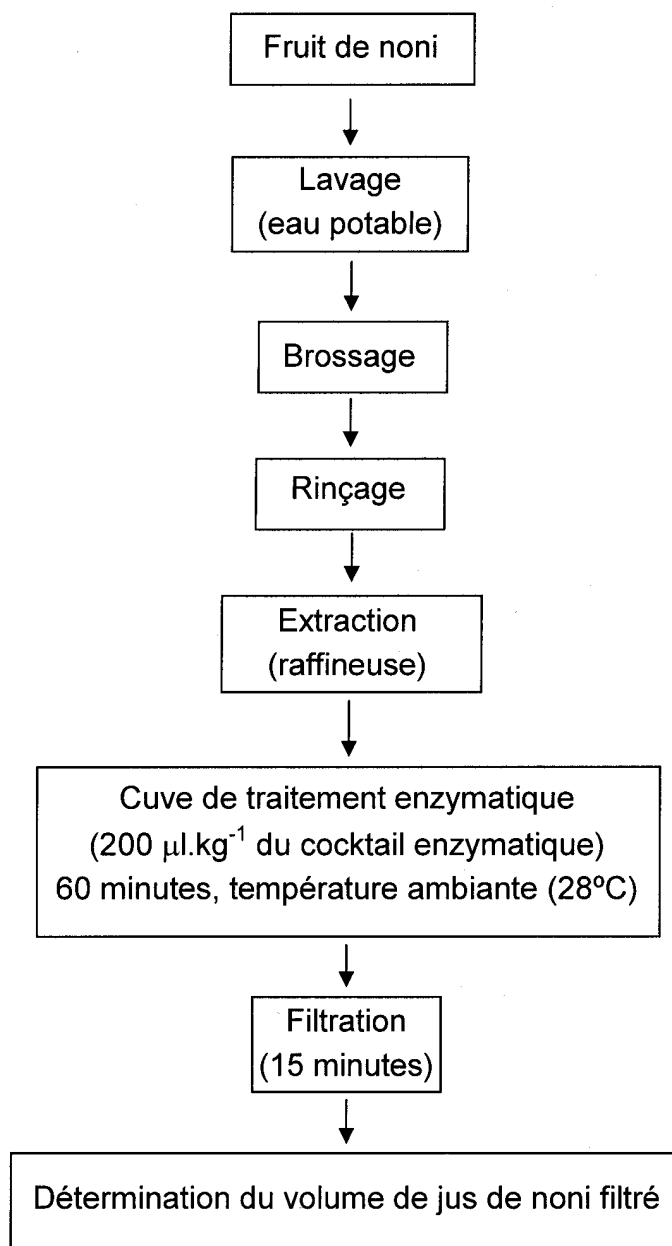
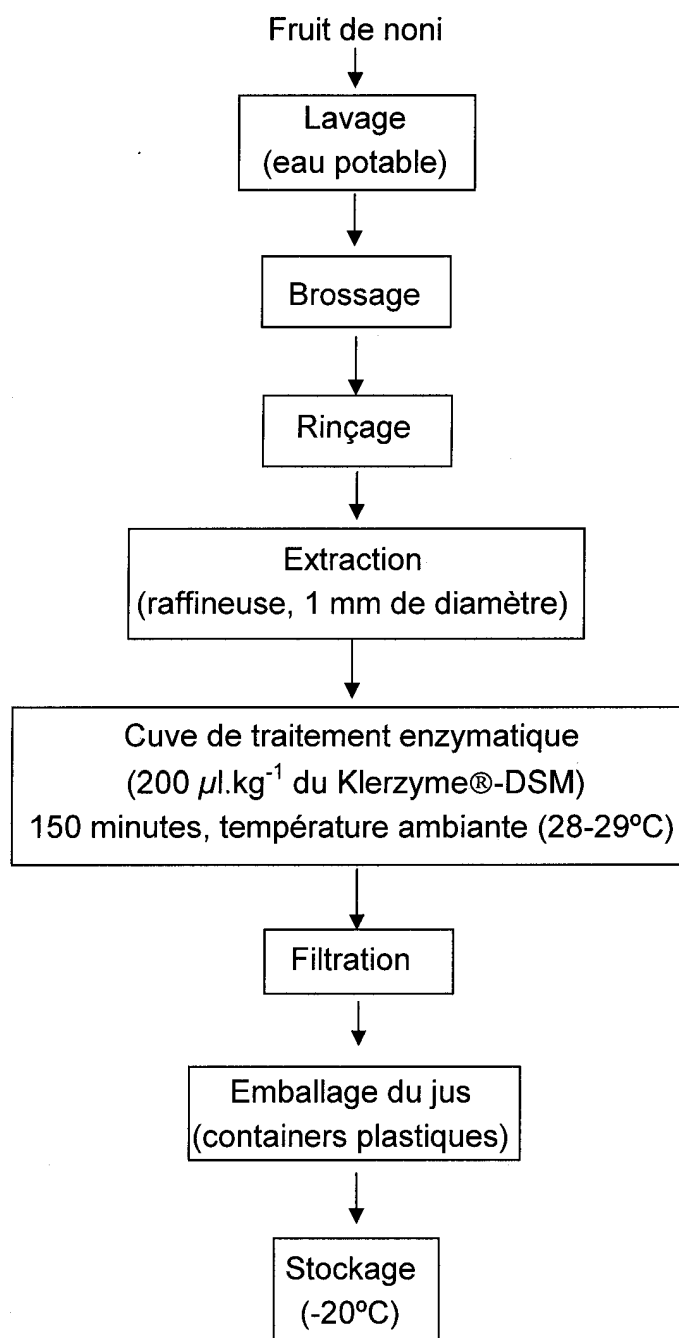


Figure 3

**Figure 4**

**Figure 5**

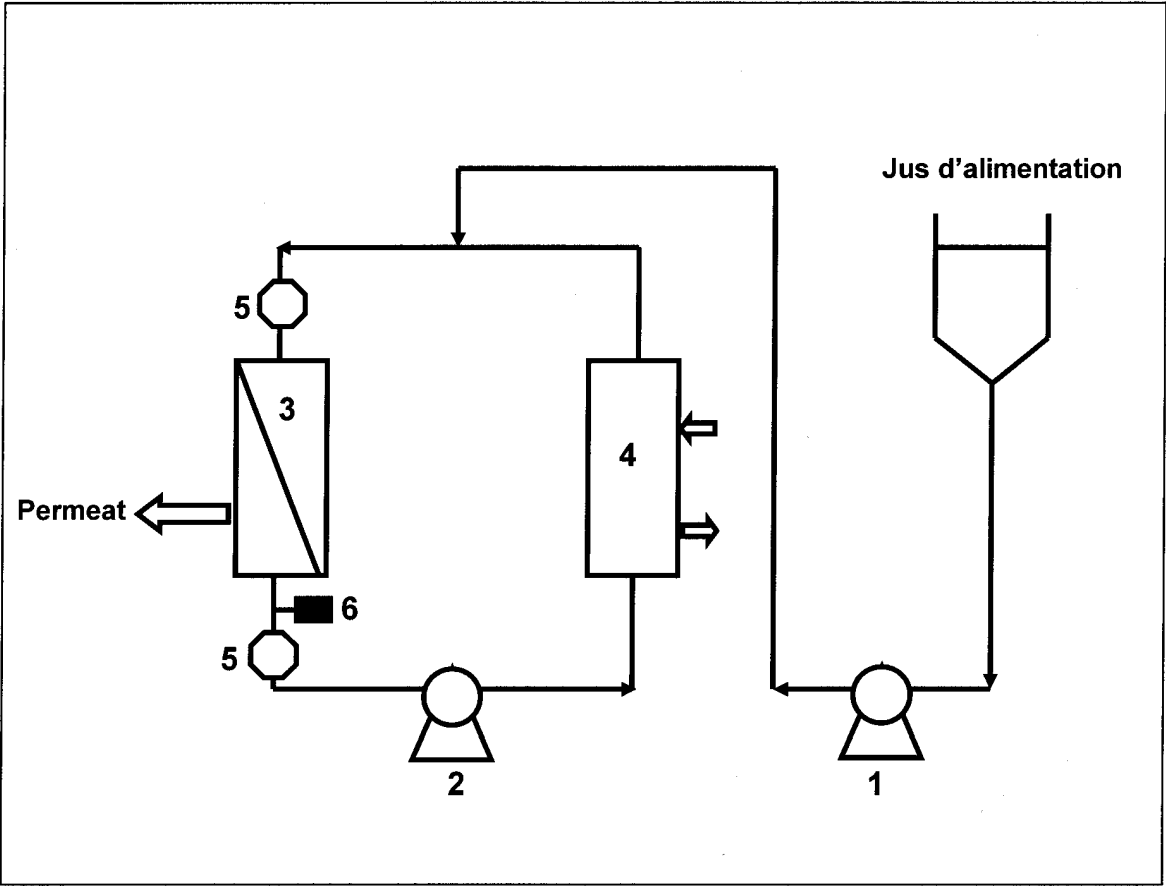


Figure 6

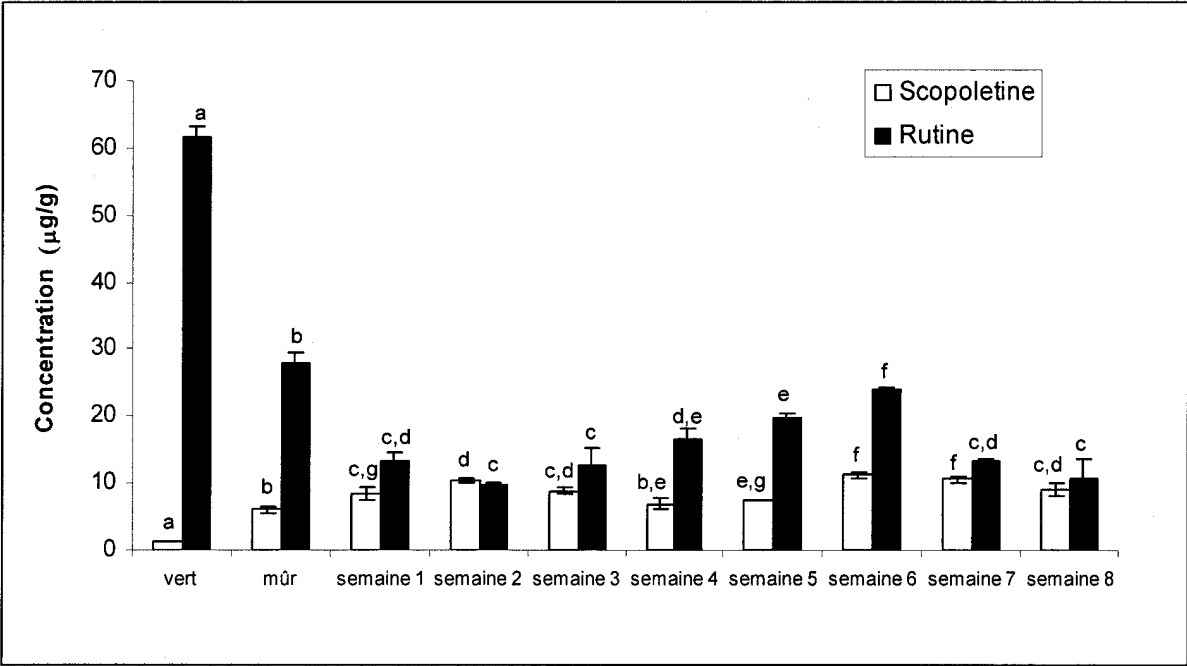


Figure 7

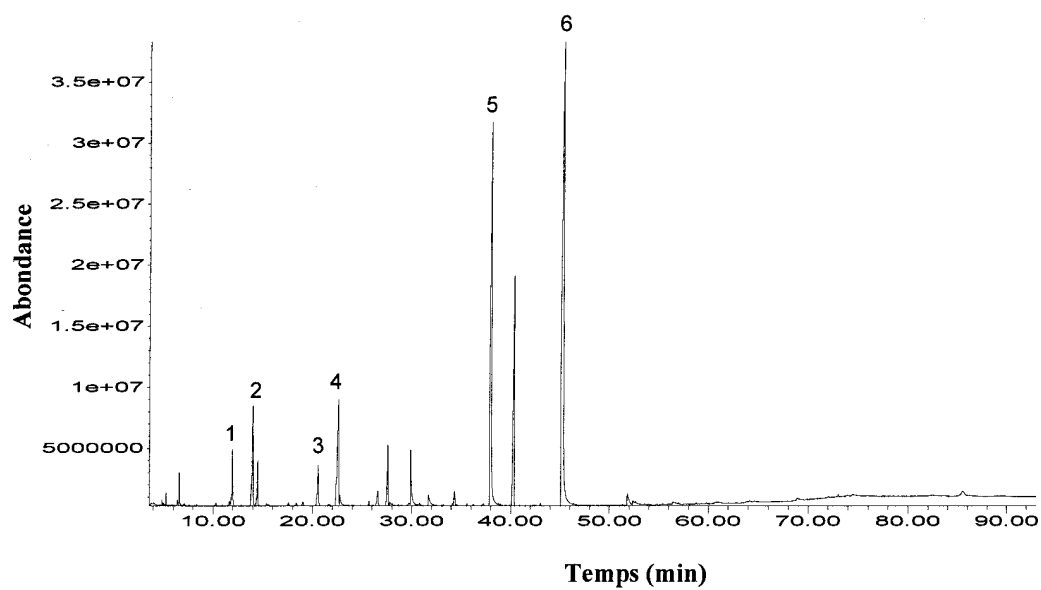


Figure 8

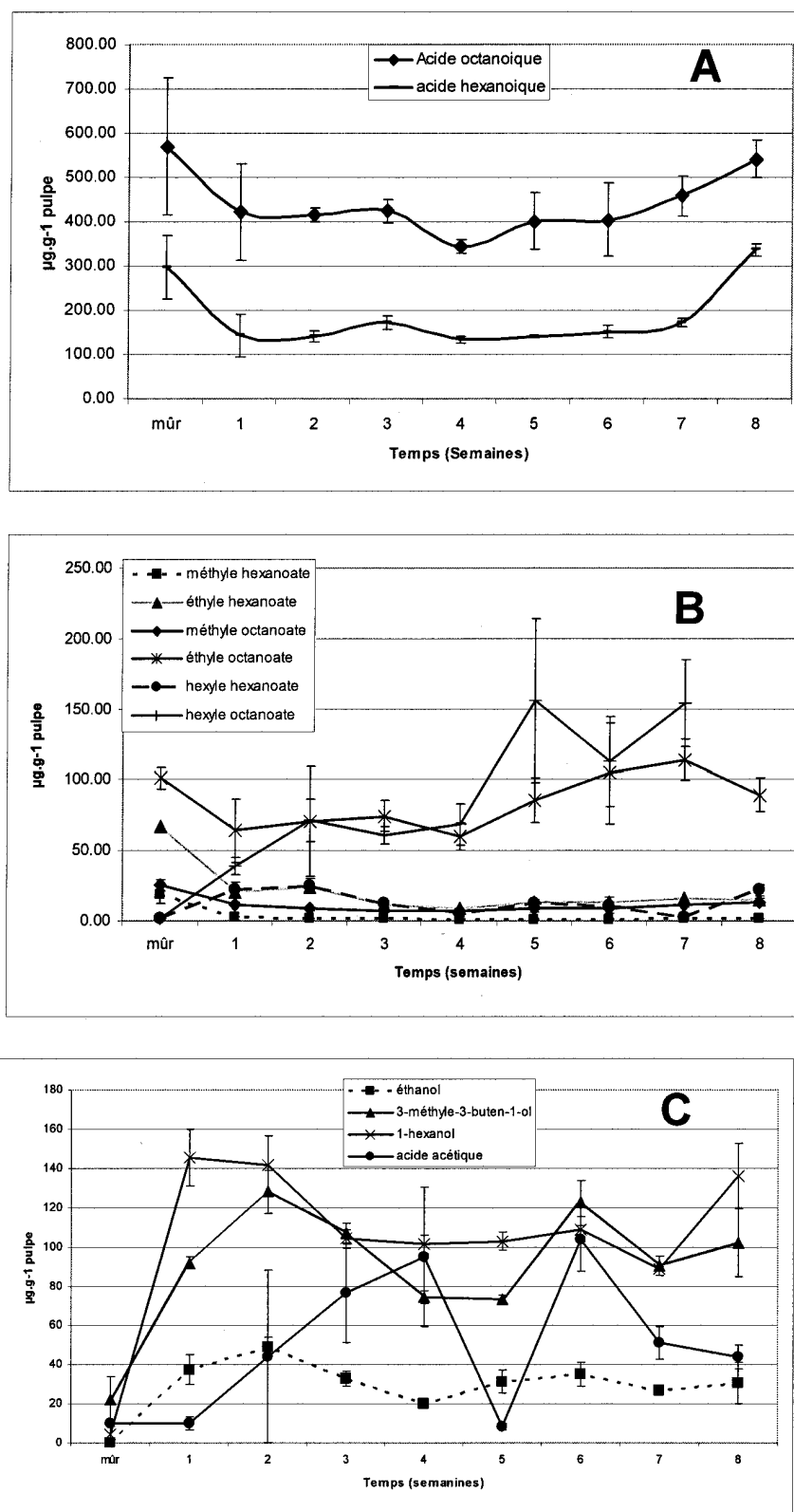


Figure 9

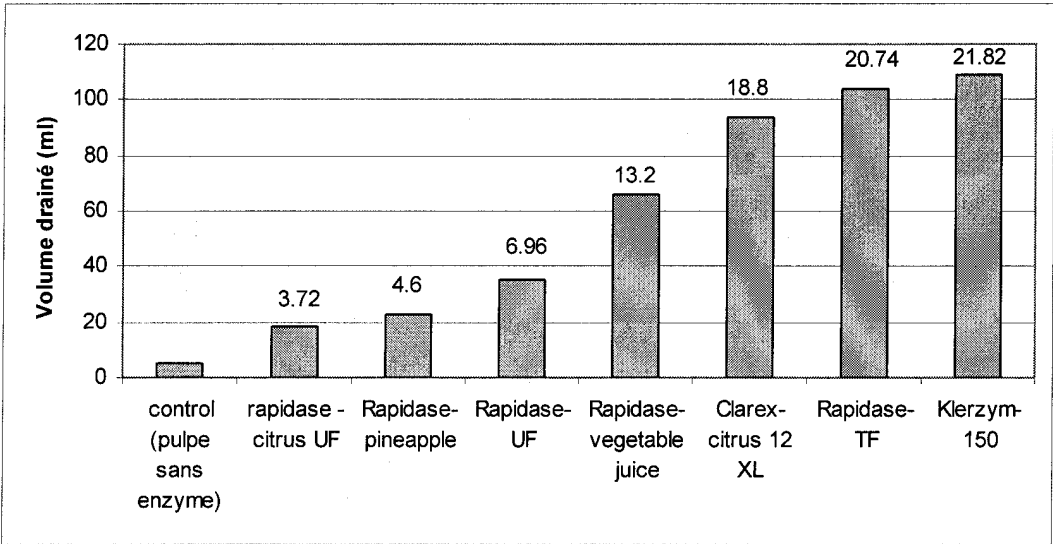


Figure 10

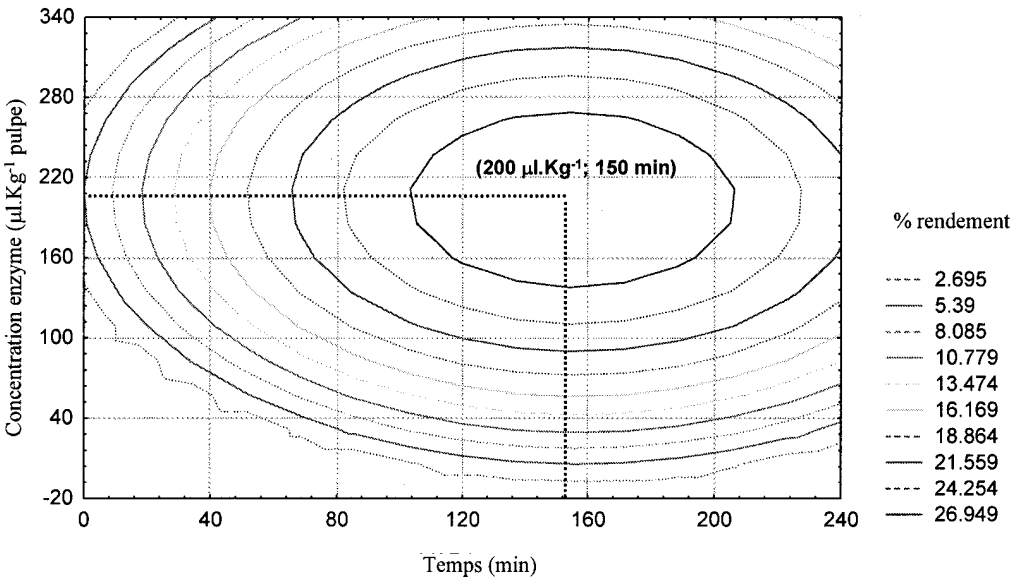


Figure 11

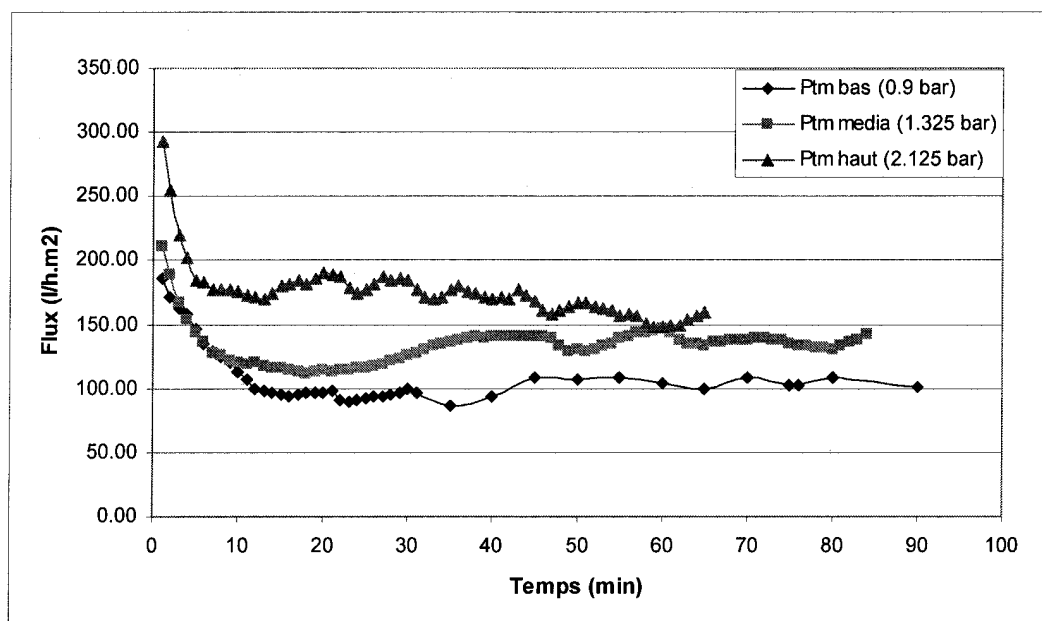


Figure 12

RAPPORT DE RECHERCHE

articles L.612-14, L.612-17 et R.612-53 à 69 du code de la propriété intellectuelle

OBJET DU RAPPORT DE RECHERCHE

L'I.N.P.I. annexe à chaque brevet un "RAPPORT DE RECHERCHE" citant les éléments de l'état de la technique qui peuvent être pris en considération pour apprécier la brevetabilité de l'invention, au sens des articles L. 611-11 (nouveau) et L. 611-14 (activité inventive) du code de la propriété intellectuelle. Ce rapport porte sur les revendications du brevet qui définissent l'objet de l'invention et délimitent l'étendue de la protection.

Après délivrance, l'I.N.P.I. peut, à la requête de toute personne intéressée, formuler un "AVIS DOCUMENTAIRE" sur la base des documents cités dans ce rapport de recherche et de tout autre document que le requérant souhaite voir prendre en considération.

CONDITIONS D'ÉTABLISSEMENT DU PRÉSENT RAPPORT DE RECHERCHE

- ☒ Le demandeur a présenté des observations en réponse au rapport de recherche préliminaire.
- ☐ Le demandeur a maintenu les revendications.
- ☒ Le demandeur a modifié les revendications.
- ☐ Le demandeur a modifié la description pour en éliminer les éléments qui n'étaient plus en concordance avec les nouvelles revendications.
- ☐ Les tiers ont présenté des observations après publication du rapport de recherche préliminaire.
- ☐ Un rapport de recherche préliminaire complémentaire a été établi.

DOCUMENTS CITÉS DANS LE PRÉSENT RAPPORT DE RECHERCHE

La répartition des documents entre les rubriques 1, 2 et 3 tient compte, le cas échéant, des revendications déposées en dernier lieu et/ou des observations présentées.

- ☒ Les documents énumérés à la rubrique 1 ci-après sont susceptibles d'être pris en considération pour apprécier la brevetabilité de l'invention.
- ☐ Les documents énumérés à la rubrique 2 ci-après illustrent l'arrière-plan technologique général.
- ☐ Les documents énumérés à la rubrique 3 ci-après ont été cités en cours de procédure, mais leur pertinence dépend de la validité des priorités revendiquées.
- ☐ Aucun document n'a été cité en cours de procédure.

**1. ELEMENTS DE L'ETAT DE LA TECHNIQUE SUSCEPTIBLES D'ETRE PRIS EN
CONSIDERATION POUR APPRECIER LA BREVETABILITE DE L'INVENTION**

FR 2 783 137 A1 (ROYAL TAHITI NONI [FR])
17 mars 2000 (2000-03-17)

JP 2003 055248 A (MARUKIN CHUYU CO LTD)
26 février 2003 (2003-02-26)

WO 2007/084983 A2 (TAHITIAN NONI INTERNATIONAL IN [US]; GODBEE RICHARD G [US];
JENSEN CLA)
26 juillet 2007 (2007-07-26)

WO 02/45734 A1 (MORINDA INC [US])
13 juin 2002 (2002-06-13)

**2. ELEMENTS DE L'ETAT DE LA TECHNIQUE ILLUSTRANT L'ARRIERE-PLAN
TECHNOLOGIQUE GENERAL**

NEANT

**3. ELEMENTS DE L'ETAT DE LA TECHNIQUE DONT LA PERTINENCE DEPEND
DE LA VALIDITE DES PRIORITES**

NEANT